



*ORDRE PROFESSIONNEL DES
TECHNOLOGISTES MÉDICAUX
DU QUÉBEC*

GUIDE DE MICROBIOLOGIE



GUIDE DE MICROBIOLOGIE

Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec
281, avenue Laurier Est, Montréal (Québec) H2T 1G2
Tél. : 514-527-9811 **Sans frais** : 1-800-567-7763 Téléc. : 514-527-7314
Courriel : info@optmq.org Adresse Internet : www.optmq.org

ISBN : 978-2-9816759-0-3 (version PDF)
Dépôt légal - Bibliothèque et Archives nationales du Québec, 2017
Dépôt légal - Bibliothèque et Archives Canada, 2017

© 2017 Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec (OPTMQ).
Tous droits réservés. Toute reproduction ou utilisation du présent ouvrage est
autorisée avec mention de la source et avis à l'OPTMQ.

AVANT-PROPOS

Le présent document remplace les règles de pratique en microbiologie de l'OPTMQ publiées en 2006. Il a été révisé selon le processus de révision périodique des documents publiés par le comité des normes de la pratique et a été adopté par le Conseil d'administration de l'OPTMQ le 10 juin 2017. Seules des modifications mineures ont été apportées dans l'attente de la révision complète de ce document. Ces modifications sont présentées à la suite de l'avant-propos.

Afin de remplir son mandat qui est de protéger le public, l'Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec (OPTMQ) encadre l'exercice de la profession d'une part, par la surveillance générale de celui-ci et d'autre part, par la formation de ses membres. L'OPTMQ s'assure que ses membres conservent leurs compétences et ont accès à des outils appropriés pour les guider dans l'exercice de leurs fonctions.

Les technologistes médicaux doivent posséder les compétences requises pour exercer leur profession. Ces compétences se traduisent par le savoir, le savoir-être, le savoir-faire et le savoir-agir. Bien que son rôle, sa participation et sa responsabilité varient d'un établissement à l'autre, le technologiste médical doit connaître les politiques et procédures en vigueur à son travail et s'y conformer. L'exercice du jugement professionnel suppose également la capacité d'appliquer les politiques et procédures établies avec toute la rigueur nécessaire ainsi que l'adaptabilité exigée par les circonstances.

Le document intitulé *Les normes de pratique du technologiste médical* énonce les compétences générales que doivent maîtriser les technologistes médicaux. Le présent guide précise les compétences relatives aux activités réalisées au laboratoire de microbiologie. Ce guide vise à compléter les connaissances et à améliorer les pratiques des technologistes médicaux. Il collige les renseignements existants afin de renforcer les critères de qualité et de sécurité s'appliquant au domaine de la microbiologie en vue d'accorder la primauté au bien-être et à la protection du patient et à l'amélioration de la qualité des services dispensés.

Cet ouvrage ne vise pas à créer de nouvelles obligations non prévues par la loi. Les renseignements qu'il contient ne sont pas exhaustifs et ne remplacent pas la réglementation en vigueur. Compte tenu de l'évolution technologique, elles feront l'objet de révisions, et toute suggestion susceptible d'en améliorer le contenu sera accueillie avec intérêt. Tous les documents de l'OPTMQ publiés ultérieurement prévaudront sur les exigences exprimées dans le présent document.

Quand une référence citée dans le présent document n'est pas datée, c'est qu'elle renvoie à la plus récente édition du document. Les hyperliens figurant dans le texte étaient opérationnels quand ce guide a été publié.

AVANT-PROPOS (suite)

Il est à noter que le titre de « technologiste médical » est considéré comme invariable et qu'il désigne aussi bien les hommes que les femmes. Dans ce document, le terme « laboratoire » désigne une entité qui comprend, entre autres, les technologistes médicaux et les gestionnaires du laboratoire.

Nous tenons à remercier les personnes qui ont collaboré à la révision scientifique la version antérieure de ce document : Louise Beauséjour, T.M., D^r Harold Bernatchez, médecin microbiologiste infectiologue, Louise Boileau, Guylaine Bouliane, Elise Dionne, Huguette Gingras, D^r Emanuel Kolyvas, médecin microbiologiste infectiologue, Johanne Lefebvre, B.Sc., Guylaine Lévesque, T.M., Maryse Nichols, Yolande Pesant, Christiane Restieri, Pierre Turcotte, M.Sc. et Marie Vachon. Nous tenons à souligner la collaboration de Madame Manon Leblanc et de Monsieur Ross Thuot qui ont participé à la première ébauche de ce document. En particulier, nous remercions sincèrement Madame Louise Trudel, M.Sc., responsable du laboratoire de parasitologie du Laboratoire de Santé publique du Québec, pour sa collaboration à la rédaction et la révision de la section traitant de la parasitologie.

Nous remercions aussi sincèrement Lise Couture, T.M., Dr Jocelyn Delorme, médecin microbiologiste infectiologue, Jacinthe Demers, Lynda Godue, T.M., Luc Massicotte, M.Sc., France Pouliot et Danielle Cousineau, anciennement membres du sous-comité en microbiologie, pour leur participation à la réalisation de la version antérieure de ce document.

Finalement, nous remercions Mme Lise Couture, T.M. pour sa révision du présent document.

Les membres du comité des normes de la pratique :

Julie Désautels, T.M.

Suzanne Deschênes Dion, F.T.M., présidente

Stéphanie Lemay, T.M.

Michèle Pellerin, T.M.

Carolle Robert, T.M.

Anne-Marie Martel, T.M., chargée de dossiers scientifiques de l'OPTMQ

MODIFICATIONS

Voici la liste des modifications qui ont été effectuées dans le présent document :

- Modification du titre, de l'avant-propos et de toutes les mentions concernant les règles de pratique. Conséquemment aux nouvelles orientations du comité des normes, les règles de pratique sont remplacées par des guides.
- Le terme *spécimen* a été remplacé par *échantillon* à plusieurs endroits.
- Remplacement du terme « maintenance préventive » par « entretien préventif » dans tout le document.
- Modifications des termes *doit*, *devrait* et *peut* au point 2.0.
- Remplacement de la recommandation d'avoir un système de gestion de la qualité par une exigence au point 1.0.
- Remplacement de la recommandation d'avoir une personne responsable de la qualité par une exigence au point 3.0.
- Remplacement de la recommandation de désigner une personne responsable de la santé et de la sécurité par une exigence au point 4.0.
- Ajout de l'exigence de formation continue pour les membres de l'OPTMQ au point 5.1.
- Remplacement de l'exigence de l'enregistrement de la personne ayant reçu les échantillons par une recommandation au point 10.0.
- Remplacement de la recommandation de participer à un programme d'évaluation externe de la qualité par une exigence au point 12.0.
- Remplacement de la recommandation de participer à un contrôle externe de la qualité par une exigence au point 17.5.
- Mise à jour de la bibliographie, des hyperliens et de la plupart des références.

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	III
MODIFICATIONS	V
1.0 INTRODUCTION	1
2.0 DÉFINITIONS	1
3.0 SYSTÈME DE LA QUALITÉ	3
4.0 MESURES DE SÉCURITÉ	4
4.1 QUALITÉ ET CONFINEMENT DES LIEUX DE TRAVAIL.....	4
4.2 SURVEILLANCE ET VÉRIFICATION DES ÉQUIPEMENTS DE SÉCURITÉ.....	4
4.2.1 Installation et certification des enceintes de sécurité biologique	5
4.2.2 Utilisation des enceintes de sécurité biologique	5
4.3 ÉLIMINATION DES DÉCHETS BIOMÉDICAUX.....	6
4.3.1 Décontamination sur place des déchets biomédicaux	6
4.4 DÉVERSEMENT BIOLOGIQUE	7
4.5 SYSTÈME D'INFORMATION SUR LES MATIÈRES DANGEREUSES UTILISÉES AU TRAVAIL (SIMDUT)	7
4.6 RESSOURCES EN SANTÉ ET SÉCURITÉ	8
5.0 PERSONNEL	8
5.1 EXPERTISE ET FORMATION EN COURS D'EMPLOI	8
5.2 MAINTIEN DE L'EXPERTISE EN MICROSCOPIE	8
5.3 DÉONTOLOGIE	9
6.0 MATÉRIEL DIDACTIQUE ET DE RÉFÉRENCE EN MICROBIOLOGIE	9
7.0 GESTION DE LA DOCUMENTATION	10
7.1 PROCÉDURES	10
7.2 ENREGISTREMENTS.....	10
8.0 PRÉLÈVEMENT AUX FINS D'ANALYSE DE MICROBIOLOGIE	11
8.1 MANUEL DE PRÉLÈVEMENT DES ÉCHANTILLONS.....	11
8.2 PRÉLÈVEMENT POUR LES TECHNIQUES DE MISE EN CULTURE	11
8.3 PRÉLÈVEMENT POUR LES ÉCHANTILLONS FIXÉS	11
8.4 PRÉLÈVEMENT POUR LES ANALYSES IMMUNOLOGIQUES OU MOLÉCULAIRES.....	12
8.5 PRÉLÈVEMENT AVEC ÉCOUVILLONS	12
8.6 PRÉLÈVEMENT EFFECTUÉ PAR LE PATIENT	12
9.0 CONSERVATION ET TRANSPORT DES ÉCHANTILLONS DE MICROBIOLOGIE	12
9.1 MILIEUX DE TRANSPORT POUR LES TECHNIQUES DE MISE EN CULTURE.....	13
9.1.1 Particularités concernant les virus.....	13
9.1.2 Particularités concernant les champignons.....	13
9.2 MILIEUX DE TRANSPORT POUR LA BIOLOGIE MOLÉCULAIRE.....	13
9.3 MILIEUX DE CONSERVATION POUR LA RECHERCHE DE PARASITES INTESTINAUX.....	14
9.4 TRANSPORT DE MATIÈRES INFECTIEUSES.....	14
10.0 RÉCEPTION ET TRAITEMENT DES ÉCHANTILLONS	14
10.1 CRITÈRES D'ACCEPTATION OU DE REJET DES ÉCHANTILLONS DE MICROBIOLOGIE	15
11.0 CONTRÔLE DE LA QUALITÉ DES PROCÉDURES ANALYTIQUES	16
11.1 CRITÈRES GÉNÉRAUX.....	16
11.2 ENREGISTREMENT D'UNE NON-CONFORMITÉ	16
12.0 CONTRÔLE EXTERNE DE LA QUALITÉ	17

13.0 ÉQUIPEMENTS	17
13.1 EXIGENCES GÉNÉRALES	17
13.2 ENTRETIEN PRÉVENTIF ET CONTRÔLE DE LA QUALITÉ.....	17
13.2.1 Enregistrer, dater et parapher.....	18
13.3 DOCUMENTATION RELATIVE À CHAQUE ÉQUIPEMENT	18
13.3.1 Procédures en cas de défectuosité	18
13.4 EXIGENCES SPÉCIFIQUES À CERTAINS ÉQUIPEMENTS	18
13.4.1 Autoclave	19
13.4.2 Balance	19
13.4.3 Chambre anaérobie	19
13.4.4 Incubateur.....	19
13.4.5 Jarre et sac pour incubation en atmosphère contrôlée	19
13.4.5.1 Catalyseurs	20
13.4.5.2 Souches de contrôle pour atmosphère contrôlée	20
13.5 ÉQUIPEMENTS À TEMPÉRATURE CONTRÔLÉE	20
13.5.1 Limites de tolérance	20
13.6 ÉQUIPEMENTS VOLUMÉTRIQUES : MICRO-PIPETTE, ANSE CALBRÉE, DISTRIBUTEUR, ETC.....	21
13.7 MICROSCOPE ET MICROMÈTRE OCULAIRE.....	21
13.8 PH MÈTRE	21
13.9 LECTEUR OPTIQUE DE PLAQUES IMMUNO-ENZYMATIQUES.....	22
13.10 VERRERIE DE LABORATOIRE.....	22
13.10.1 Contrôle de la qualité de la verrerie.....	22
14.0 RÉACTIFS.....	22
14.1 GESTION DES RÉACTIFS EN MICROBIOLOGIE	23
14.2 ANTIMICROBIENS.....	23
14.3 COLORANTS	23
14.4 ANTISÉRUMS	24
14.5 TROUSSES COMMERCIALES.....	24
14.6 EAU DE LABORATOIRE.....	24
15.0 SOUCHES DE CONTRÔLE DE RÉFÉRENCE	24
15.1 CHOIX DES SOUCHES DE CONTRÔLE	24
15.2 CONSERVATION DES SOUCHES DE CONTRÔLE.....	25
16.0 MILIEUX DE CULTURE.....	25
16.1 CRITÈRES GÉNÉRAUX.....	25
16.2 MILIEUX DE CULTURE PRÉPARÉS SUR PLACE	25
16.2.1 Établir la péremption du milieu de culture.....	26
16.3 MILIEUX COMMERCIAUX PRÊTS À L'EMPLOI	26
16.3.1 Vérification de la conformité des milieux commerciaux prêts à l'emploi	26
17.0 PARASITOLOGIE INTESTINALE.....	27
17.1 COLLECTE ET CONSERVATION DE L'ÉCHANTILLON DE SELLES	27
17.2 ANALYSE DES ÉCHANTILLONS DE SELLES : CONCENTRATION ET COLORATIONS PERMANENTES.....	28
17.2.1 Contrôle de la qualité des colorations permanentes	28
17.3 MICROSCOPIE EN PARASITOLOGIE.....	29
17.3.1 Étalonnage du micromètre oculaire.....	29
17.4 CULTURES EN PARASITOLOGIE INTESTINALE.....	29
17.4.1 Culture pour <i>Acanthamoeba</i>	29
17.4.2 Culture pour <i>Strongyloides</i>	29
17.5 CONTRÔLE DE LA QUALITÉ EN PARASITOLOGIE	30

17.6	MAINTIEN DE L'EXPERTISE EN PARASITOLOGIE.....	30
17.7	ÉMISSION DU RAPPORT.....	30
18.0	PARASITES EXTRA-INTESTINAUX.....	31
18.1	CULTURE DES VOIES GÉNITALES : <i>TRICHOMONAS VAGINALIS</i>	31
18.2	PARASITES SANGUINS.....	31
18.3	PARASITES TISSULAIRES.....	31
19.0	MISE EN CULTURE ET IDENTIFICATION BACTÉRIENNE.....	31
19.1	PROCÉDURES RELATIVES À L'IDENTIFICATION BACTÉRIENNE.....	32
19.2	CONTRÔLE DE LA QUALITÉ DES SYSTÈMES AUTOMATISÉS D'IDENTIFICATION BACTÉRIENNE.....	33
20.0	ÉPREUVES DE SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES.....	33
20.1	NORMES ET GUIDE DE RÉFÉRENCE.....	33
20.2	CONTRÔLE DE LA QUALITÉ DES ANTIBIOGRAMMES.....	34
20.2.1	Utilisation de souches de contrôle.....	34
20.2.2	Concentration minimale inhibitrice (CMI).....	34
20.2.3	Fréquence des contrôles de la qualité.....	35
20.3	SÉLECTION DU MILIEU DE CULTURE POUR ANTIBIOGRAMME.....	35
20.3.1	Milieux pour bactéries fastidieuses.....	35
20.4	TEST DE SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES – MÉTHODE DE DIFFUSION EN GÉLOSE.....	35
20.4.1	L'inoculum bactérien.....	36
20.5	AUTRES MÉTHODES MANUELLES DE RÉALISATION D'ANTIBIOGRAMMES.....	36
20.6	MÉTHODES AUTOMATISÉES DE RÉALISATION D'ANTIBIOGRAMMES.....	36
20.7	VÉRIFICATION DES RÉSULTATS DE SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES.....	36
21.0	COLORATIONS.....	37
21.1	MÉTHODE STANDARDISÉE D'OBSERVATION ET D'ÉVALUATION MICROSCOPIQUE.....	37
21.2	COLORATION DE GRAM.....	37
21.2.1	Modèle d'interprétation de la coloration de Gram.....	38
21.2.2	Émission du rapport d'analyse de la coloration de Gram.....	39
21.3	COLORATION PAR FLUORESCENCE.....	39
21.4	COLORATION POUR RECHERCHE DE PARASITES.....	39
22.0	CONTRÔLE DE LA QUALITÉ EN SÉRO-IMMUNOLOGIE.....	39
22.1	GÉNÉRALITÉS SUR LE CONTRÔLE DE LA QUALITÉ.....	39
22.1.1	Information sur le rapport d'analyse.....	40
23.0	RAPPORT D'ANALYSE.....	40
23.1	VÉRIFICATION DE LA VALIDITÉ DU RÉSULTAT D'ANALYSE.....	40
23.2	ÉMISSION DU RAPPORT D'ANALYSE.....	40
23.3	GESTION DES RÉSULTATS CRITIQUES.....	41
23.4	SIGNATURE DES RAPPORTS.....	41
ANNEXE 1	RESSOURCES EN SANTÉ ET SÉCURITÉ.....	42
ANNEXE 2	RESSOURCES EN MICROBIOLOGIE.....	43
ANNEXE 3	CALENDRIER D'ENTRETIEN PRÉVENTIF ET DE CONTRÔLE DE LA QUALITÉ DE CERTAINS ÉQUIPEMENTS.....	44
ANNEXE 4	CONTRÔLE DE LA QUALITÉ DES RÉACTIFS, DES COLORANTS, DES ANTISÉRUMS, DES ANTIMICROBIENS ET DES TROUSSES COMMERCIALES.....	47
ANNEXE 5	PRÉPARATION DE L'INOCULUM BACTÉRIEN POUR ANTIBIOGRAMME PAR LA MÉTHODE DE DIFFUSION EN GÉLOSE.....	50

ANNEXE 6 ÉPREUVE DE SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES PAR LA MÉTHODE « KIRBY-BAUER ».....	51
BIBLIOGRAPHIE.....	53

1.0 Introduction

Le rôle du laboratoire de microbiologie est d'assurer le traitement des échantillons de manière appropriée, d'effectuer une analyse de qualité et de fournir un résultat exact et reproductible dans un délai opportun.

Pour satisfaire aux exigences de son rôle, tout laboratoire doit mettre en place un système de gestion de la qualité (ou système de management de la qualité), ce qui exige la définition d'un plan organisationnel et d'une structure de gestion de la qualité couvrant tout le processus, qui débute lors de la prescription de l'analyse et se termine par la prise de décision clinique.

Les exigences du système de qualité applicables à tous les secteurs d'activité du laboratoire de biologie médicale sont décrites dans la norme ISO 15189 ainsi que dans le document de l'OPTMQ intitulé *La qualité dans les laboratoires de biologie médicale*⁶. Les exigences de ce dernier s'appliquent à tout le contenu de ce document, sauf indications contraires.

Le secteur de la microbiologie couvre un monde fascinant d'organismes vivants, et en ce sens, la qualité du processus analytique implique des exigences particulières : l'objectif de ce document est de les exposer en détail. L'on traitera principalement des activités pratiquées par la majorité des laboratoires de microbiologie.

C'est en tenant compte de tous ces éléments et en conformité avec les bonnes pratiques de laboratoire que nous présentons ce guide, dont l'objectif est de fournir les lignes directrices pour la mise en place et l'amélioration de procédures de qualité effectuées au laboratoire de microbiologie, dans un environnement sécuritaire et efficace.

2.0 Définitions

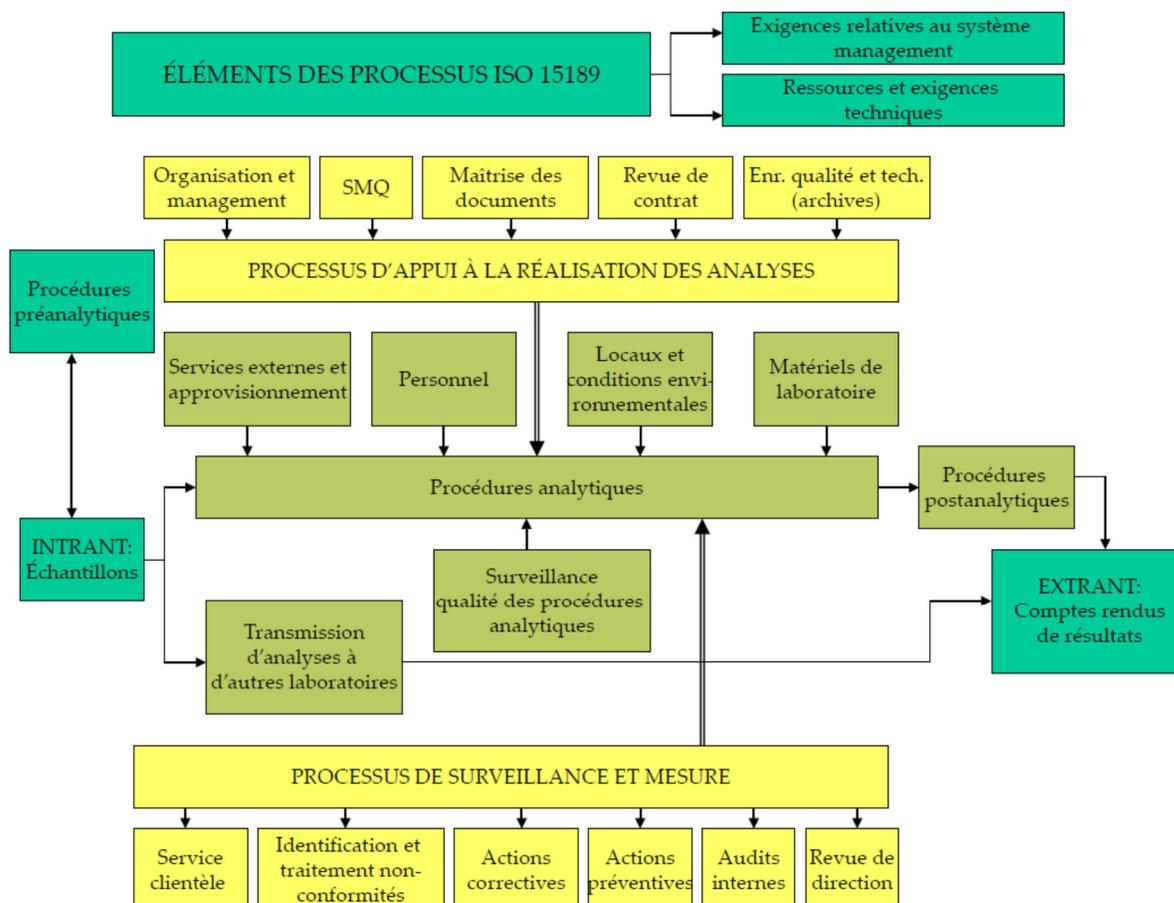
Action corrective	Action qui élimine la cause d'une non-conformité ou d'une anomalie. Une action corrective agit sur un processus ou sur une procédure.
Action préventive	Action qui élimine la cause <u>potentielle</u> d'une non-conformité ou d'une anomalie.
Assurance de la qualité	Ensemble d'activités méthodiques et planifiées, mises en place à l'intérieur du système de la qualité, qui permettent à une organisation de remplir les exigences de la qualité.
Conformité	Caractère de ce qui satisfait à toutes les exigences déterminées.
Contrôle de la qualité	Opérations techniques mises en place dans le but de remplir les exigences en matière de qualité et de se conformer à la réglementation.
Correction	Action qui vise à éliminer une non-conformité détectée.

Document	« Support d'information et l'information (3.8.2) qu'il contient ». ISO 9000:2015, (3.8.5)
Enregistrement	« Document (3.8.5) faisant état de résultats obtenus ou apportant la preuve de la réalisation d'une activité ». ISO 9000 :2015, (3.8.10)
Exactitude	L'exactitude de mesure est l'étroitesse de l'accord entre le résultat d'un mesurage et une valeur vraie du mesurande ¹ .
Non-conformité	Caractère de ce qui ne satisfait pas à une exigence déterminée.
Politique	Énoncé écrit indiquant les intentions et les lignes directrices définies par des membres de l'organisation et adopté par la direction pour la gestion de ses activités.
Précision	La précision relative à une méthode d'analyse est la capacité de reproduire plusieurs fois le même résultat lors de mesures multiples d'une même grandeur ⁵¹ .
Procédure	Instructions précises sur la manière d'effectuer une activité ou un processus.
Processus	Ensemble des activités interactives ou étroitement liées dont l'exécution transforme des éléments d'entrée en éléments de sortie.
Signification des termes : « doit », « devrait » et « peut »	
Doit	Dans le présent document, le verbe <i>devoir</i> à l'indicatif désigne l'obligation de respecter ou d'appliquer les exigences prescrites, soit parce qu'elles sont exigées par la réglementation en vigueur ou parce qu'elles ont trait à une compétence que doit posséder le technologiste médical. L'expression <i>il faut</i> a le même sens.
Deviendrait	Dans le présent document, le verbe <i>devoir</i> au conditionnel signifie que l'énoncé s'appuie sur des faits scientifiques et qu'il est recommandé de le respecter ou de l'appliquer. L'expression <i>il faudrait</i> a le même sens.
Peut	Dans le présent document, le verbe <i>pouvoir</i> signifie que l'énoncé est considéré comme valable et que son application est souhaitable.

3.0 Système de la qualité

La mise en place d'un système de la qualité au laboratoire implique l'adoption de critères de qualité pour tous les processus associés aux besoins et à la sécurité des patients, des médecins, du personnel et des autorités de réglementation.

Les éléments essentiels de ce système de qualité constituent l'infrastructure nécessaire à la gestion de ses opérations⁴. Le schéma suivant illustre ces éléments :



Source : Extrait d'une présentation de Madame Sergine Lapointe, du Centre de toxicologie de l'Institut national de santé publique du Québec.

Lexique : SMQ : Système de management de la qualité
 Enr. qualité et tech. : Enregistrement qualité et technique

Note : Le laboratoire, avec le soutien de la direction de l'institution, doit désigner au moins une personne responsable de la qualité qui veillerait à l'application, au suivi et à la mise à jour des exigences énoncées dans son manuel qualité^{1,19}.

4.0 Mesures de sécurité

Il est essentiel de développer et de mettre en place un programme de prévention des risques liés à la santé et à la sécurité du personnel dans le laboratoire. Les responsables du laboratoire doivent désigner, avec le soutien de la direction de l'institution, au moins une personne responsable de la santé et de la sécurité.

Ce programme de santé et de sécurité au laboratoire, tout en respectant la réglementation en cours, doit prévoir l'élaboration de politiques sur les risques inhérents au laboratoire de l'établissement concerné, ainsi que des procédures écrites détaillant les mesures à prendre pour gérer ces risques^{8,9,10,11,31,44,45}. Les informations devraient être consignées dans un manuel des procédures d'application des mesures de sécurité au laboratoire.

Il faut souligner qu'un programme de prévention comprenant des mesures de sécurité efficaces et reconnues est fondé sur la responsabilité partagée à tous les niveaux : personnel de laboratoire, gestionnaire, employeur, comité de prévention des infections et comité de santé et sécurité.

Les points qui suivent doivent figurer dans les politiques et les procédures en matière de santé et de sécurité au laboratoire.

4.1 Qualité et confinement des lieux de travail

Les lieux de travail doivent être adaptés aux activités de chaque secteur du laboratoire en ce qui a trait aux conditions environnementales et doivent être conformes à la norme et au guide sur la biosécurité de l'Agence de santé publique du Canada (éclairage, température, ventilation, taux d'humidité, équipement, surfaces de travail, revêtements de sol, etc.)^{31,44,45}.

Pour le laboratoire, outre la classification par groupe de risque, Santé Canada a adopté un système de classification des risques reposant sur quatre niveaux de confinement^{31,45}. Chacun comporte des exigences en matière d'ingénierie ainsi que des exigences opérationnelles, techniques et physiques liées à la manipulation des germes virulents. Ces exigences sont décrites dans leur *Norme canadienne sur la biosécurité* et leur *Guide canadien sur la biosécurité* et sont disponibles à l'adresse suivante :

<http://canadianbiosafetystandards.collaboration.gc.ca/index-fra.php>

4.2 Surveillance et vérification des équipements de sécurité

Un programme de surveillance et de vérification régulière des équipements de sécurité tels que les enceintes de sécurité biologique, les hottes chimiques, les extincteurs, les appareils de douches corporelles et oculaires, entre autres, doit être intégré aux mesures de sécurité adoptées par le laboratoire^{31,45}.

4.2.1 Installation et certification des enceintes de sécurité biologique

Les enceintes de sécurité biologique doivent être installées conformément aux exigences énoncées dans la norme du Groupe CSA Z316.3, *Fume hoods and associated exhaust systems* et dans la *Norme canadienne sur la biosécurité*³¹ et le *Guide canadien sur la biosécurité*⁴⁵ de l'Agence de santé publique du Canada. La sélection de la classe de l'enceinte de sécurité biologique doit être conforme au niveau de confinement selon le groupe de risque de microorganismes manipulés.

Elles devraient être situées loin des zones de grande circulation et loin des portes et des bouches d'admission et d'évacuation d'air, qui risquent de perturber la direction des flux d'air. Il convient de prévoir une distance libre d'au moins 40 centimètres entre tout obstacle fixé au-dessus de l'enceinte et la bouche d'évacuation^{31,45}.

L'approvisionnement au gaz naturel n'est pas recommandé^{31,45}. Des micro-incinérateurs doivent être utilisés^{31,45}.

Le fonctionnement des enceintes de sécurité biologique doit être vérifié par un organisme accrédité^{9,31,45} avant la mise en service de celles-ci, après chaque réparation ou déplacement, ainsi que chaque année. Un rapport de certification doit être remis à l'utilisateur, qui doit le conserver^{31,45}. Une étiquette doit être apposée à l'extérieur de l'enceinte, précisant la date de la certification effectuée et celle de la prochaine certification prévue^{31,45}.

Note : Selon Santé Canada^{31,45}, les vérifications des enceintes de sécurité biologique devraient respecter les essais en situation prévus selon la norme Z316.3-95 du Groupe CSA ou l'annexe F de la norme NSF 49. Moyennant des frais, il est possible de se procurer la norme NSF 49, *NSF/ANSI 49 – Class II (Laminar Flow) Biosafety Cabinetry* au <http://www.nsf.org>.

4.2.2 Utilisation des enceintes de sécurité biologique

L'existence d'une procédure écrite d'utilisation des enceintes de sécurité biologique est obligatoire ; le document doit être accessible et la procédure doit être connue du personnel. Elle doit être conforme aux procédures décrites dans la *Norme canadienne sur la biosécurité*³¹ et le *Guide canadien sur la biosécurité*⁴⁵ de l'Agence de santé publique du Canada.

L'efficacité du filtre HEPA (*High Efficiency Particulate Air*) doit être enregistrée quotidiennement avant utilisation. De plus, l'utilisation de bandelettes de papier (p. ex. : papier essuie-tout) fixées à la base de l'écran protecteur de l'enceinte, permet de vérifier l'efficacité du flux d'air.

Note 1 : L'efficacité du filtre HEPA est inscrite sur le rapport de certification.

Note 2 : Il est recommandé d'éviter de se déplacer derrière une personne effectuant des manipulations dans l'enceinte.

4.3 Élimination des déchets biomédicaux

Les déchets biomédicaux doivent être éliminés de façon sécuritaire, dans le respect de la réglementation en vigueur^{11,43}.

Note : Le *Règlement sur les déchets biomédicaux* fixe les modalités d'entreposage, de transport et de traitement acceptables pour chaque catégorie de déchets biomédicaux. La définition des déchets biomédicaux, leur gestion, ainsi que les principales obligations liées à la réglementation du Québec sont résumées par Environnement Québec dans *Les déchets biomédicaux. Le règlement en bref*, accessible en ligne à l'adresse :

<http://www.mddelcc.gouv.qc.ca/matieres/biomedicaux/>

Pour obtenir des informations complémentaires, veuillez consulter le document de la Société canadienne de science de laboratoire médicale intitulé *La sécurité au laboratoire. Directives de la SCSLM*.

4.3.1 Décontamination sur place des déchets biomédicaux

La décontamination sur place des déchets biomédicaux de laboratoire (DBL) à l'autoclave est une méthode généralement utilisée par de nombreux laboratoires. Il est donc très important de déterminer la bonne température d'utilisation et le temps nécessaire pour obtenir la température voulue à l'intérieur de la charge en fonction du type de déchet à décontaminer.

Afin de connaître le temps nécessaire pour atteindre une température donnée en fonction de la charge, des essais devraient être effectués pour un autoclave donné à l'aide de charges factices. À chaque essai, la charge factice devrait contenir un ou plusieurs indicateurs biologiques placés à un ou des endroits auxquels la vapeur accède difficilement. Ces essais répétés avec des charges factices différentes permettent d'établir les durées minimums d'opération nécessaires pour obtenir une décontamination satisfaisante. Dans certains cas, une durée de traitement de plus de 60 minutes est recommandée.

L'efficacité de la décontamination doit être vérifiée au moins chaque semaine ou à la suite d'une réparation de l'appareil, au moyen d'un indicateur biologique. En effet, les indicateurs physiques et chimiques ne mesurent pas l'efficacité de la décontamination.

Le personnel affecté au traitement des déchets biomédicaux de laboratoire doit avoir reçu une formation spécialisée afin d'éviter tout incident ou accident grave. La formation doit couvrir au minimum les sujets suivants :

- les méthodes appropriées pour le transport et la manipulation des sacs;
- les risques biologiques associés aux DBL;
- les dispositifs de protection personnelle : gants, sarrau, lunettes de protection, masque;
- les mesures d'hygiène personnelle (lavage des mains, etc.);
- les méthodes de décontamination en cas d'accident;
- la limitation de l'accès à la salle de décontamination (la porte doit être fermée en tout temps).

4.4 Déversement biologique

Il doit exister un document détaillant la procédure à suivre en cas de déversement biologique et d'accident microbiologique dans le laboratoire ou dans un équipement; ce document doit être disponible et accessible, et la procédure doit être connue par tout le personnel^{31,45}. Elle doit être conforme aux exigences reconnues.

Si vous désirez obtenir davantage d'information, veuillez consulter les documents suivants :

- *Norme canadienne sur la biosécurité* de l'Agence de santé publique du Canada
- *Guide canadien sur la biosécurité* de l'Agence de santé publique du Canada
- *La sécurité au laboratoire. Directives de la SCSLM*

4.5 Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT)

Les fiches techniques Santé/Sécurité (FTSS) ont été conçues comme outil de référence rapide sur la sécurité relative aux microorganismes infectieux. Elles doivent être disponibles, accessibles et connues par tout le personnel.

Les FTSS renferment de l'information sur les risques pour la santé, les aspects médicaux, les précautions recommandées, les renseignements relatifs à la manipulation ainsi que la marche à suivre en cas de déversement.

Les FTSS sont accessibles sur le site Internet de Santé Canada, Bureau de la sécurité des laboratoires, à l'adresse :

<http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/index-fra.php>

Un manuel de référence sur les exigences du SIMDUT en vertu de la *Loi sur les produits dangereux* et du *Règlement sur les produits contrôlés* est présenté à l'adresse :

http://www.hc-sc.gc.ca/ewh-semt/pubs/occup-travail/ref_man/index-fra.php

De plus, la Commission de la santé et de la sécurité du travail dispose d'un service d'information sur le répertoire toxicologique, accessible à l'adresse :

<http://www.reptox.csst.qc.ca/>

4.6 Ressources en santé et sécurité

L'annexe 1 présente des adresses utiles en matière de santé et de sécurité.

5.0 Personnel

Le personnel est un élément essentiel du système de la qualité. Les ressources en personnel doivent être adéquates et suffisantes¹.

Les exigences générales du système de management de la qualité concernant le personnel sont décrites dans le document de l'OPTMQ intitulé *La qualité dans les laboratoires de biologie médicale*⁸. Nous traitons ici des particularités liées à la microbiologie.

5.1 Expertise et formation en cours d'emploi

La microbiologie nécessitant souvent une interprétation subjective, les degrés de qualification et d'expertise des technologistes médicaux sont d'une importance capitale.

Un programme doit être élaboré pour assurer l'orientation et la formation en cours d'emploi du personnel. Le maintien de la compétence doit être assuré par la formation continue ainsi que par la participation à des contrôles internes et externes de la qualité pour toutes les catégories de personnel lorsqu'applicable, compte tenu des différents quarts de travail. La formation continue est obligatoire pour les membres de l'OPTMQ.

La compétence de chaque membre du personnel pour remplir les tâches imparties doit être évaluée à l'issue de l'orientation initiale, lors de la mise en place d'une nouvelle technique, d'un retour d'un long congé, ainsi que périodiquement par la suite. Si nécessaire, une formation complémentaire et une réévaluation doivent être effectuées^{1,46}.

5.2 Maintien de l'expertise en microscopie

Les technologistes médicaux qui effectuent la lecture microscopique doivent avoir une formation adéquate et ils doivent maintenir leur expertise en examinant régulièrement un nombre suffisant de lames. Voir les points 17.3 et 21.1.

5.3 Déontologie

Le technologiste médical doit se conformer au *Code de déontologie de l'OPTMQ*.

Le technologiste médical agit avec égard pour le patient et avec professionnalisme lorsqu'il clarifie auprès d'un intervenant (équipe de soins) les besoins réels du clinicien face à une demande de culture ou d'analyse de microbiologie²⁴.

Cela peut impliquer que le technologiste médical²⁴ :

- pose des questions pour clarifier une demande;
- suggère une solution de remplacement pour un prélèvement lorsque nécessaire ou souhaitable;
- rejette un échantillon dont le traitement mènerait à un résultat erroné, fournissant ainsi une mauvaise information au clinicien;
- discute avec le médecin microbiologiste-infectiologue;
- partage ses connaissances avec un membre de l'équipe de soins.

Au-delà des écrits, le dialogue entre un membre de l'équipe de soins responsable de soumettre un échantillon et le technologiste médical est parfois essentiel pour que soit comprise l'information cruciale quant à la qualité d'un échantillon. L'équipe de soins exige un partenariat dont la force repose sur la collaboration et la bonne volonté de chacun de ses membres²⁴.

Pour obtenir davantage d'information sur une approche concrète de la collaboration vous pouvez consulter : *Lignes directrices et guide sur la collaboration*, de l'Ordre des technologistes de laboratoire médical de l'Ontario :

<http://optmq.org/wp-content/uploads/2012/12/Guide-sur-la-collaboration-document-CMLTO.pdf>

6.0 Matériel didactique et de référence en microbiologie

Pour l'accomplissement de leur travail quotidien, ainsi que pour l'orientation et la formation continue, les technologistes doivent avoir accès sur place au matériel nécessaire à l'exercice de leurs fonctions, entre autres :

- des manuels présentant les normes et les guides de pratique reconnues;
- les guides de bonnes pratiques, les standards de qualité et les lignes directrices des organismes reconnus;
- des volumes de référence récents;
- des planches, des atlas ou des logiciels nécessaires à la lecture et à l'interprétation de l'analyse (p. ex. : images représentant les microorganismes, les parasites, etc.);
- une collection de lames servant à l'identification de microorganismes, parasites, etc.;
- les sites en ligne pertinents (voir les annexes 1 et 2); ou
- toute autre source d'information pertinente.

7.0 Gestion de la documentation

Dans un système de la qualité, la documentation fait référence aux politiques, aux processus, aux procédures et aux enregistrements. Une politique de gestion de la documentation doit établir une hiérarchie documentaire et définir les lignes directrices quant aux responsabilités sur le plan de la rédaction, de la révision et de l'approbation de tout document¹.

Le laboratoire doit définir, documenter et mettre à jour les procédures de maîtrise de tous les documents et informations (de sources internes et externes) qui constituent sa documentation^{1,6,19,20}. Les procédures doivent être mises en application.

Bien que tous les membres du personnel doivent connaître les politiques et les processus concernant les activités qu'ils effectuent, ce document s'adresse au laboratoire de microbiologie, et nous nous limiterons donc à une brève description des exigences relatives aux procédures et aux enregistrements.

7.1 Procédures

Des procédures écrites, datées, approuvées et validées techniquement doivent être élaborées pour toutes les activités de laboratoire. De plus, ces procédures doivent être connues par le personnel concerné, accessibles à chaque poste de travail et mises en application¹.

Les exigences décrites dans les monographies des troussees commerciales, des réactifs, des tubes à prélèvement, etc., doivent être vérifiées à chaque changement de lot. Lorsqu'un changement est apporté à la monographie, celle-ci doit être lue, datée, paraphée et conservée. Les modifications pertinentes doivent également être intégrées à la procédure.

7.2 Enregistrements

Dans le présent contexte (voir les définitions au point 2.0), un enregistrement est un document qui constitue la preuve de l'exécution d'une activité ou qui fait état de résultats obtenus.

Par exemple⁵, les enregistrements peuvent documenter la traçabilité de l'information, apporter la preuve d'une vérification (feuille d'entretien préventif, contrôle de la qualité, etc.), ou encore certifier qu'une action préventive ou corrective a été réalisée⁵.

Un enregistrement doit être daté, paraphé et conservé selon un calendrier de conservation respectant les directives de l'institution et la réglementation en vigueur⁶. Le suivi périodique des enregistrements fait partie d'un programme d'amélioration de la qualité.

8.0 Prélèvement aux fins d'analyse de microbiologie

Les procédures relatives au prélèvement des échantillons de microbiologie doivent maintenir l'intégrité de l'échantillon.

L'obtention d'un échantillon de qualité est à la base de tout résultat d'analyse exact et cliniquement significatif.

8.1 Manuel de prélèvement des échantillons

Un manuel de prélèvement des échantillons, tenu à jour et décrivant les exigences préanalytiques en regard du prélèvement, sera fourni à toute personne ou tout établissement soumettant des échantillons pour analyse¹.

Le manuel doit décrire au moins les éléments suivants :

- les conditions cliniques (pré ou post antibiothérapie, stade de la maladie, interférences médicamenteuses ou autres, etc.) relatives au patient et ayant une incidence sur l'analyse;
- la méthode de prélèvement (site de prélèvement, instructions pour la collecte de l'échantillon, interférences, etc.);
- le milieu de transport approprié ou le contenant à utiliser (lorsque pertinent);
- le délai et les conditions de conservation et de transport (lorsque pertinent);
- les renseignements à inscrire sur le formulaire d'analyse ou l'échantillon (p. ex. : l'origine de l'échantillon, le site anatomique précis, la nature du spécimen, l'heure et la date du prélèvement, les renseignements cliniques pertinents, etc.);
- les analyses pouvant être demandées en « STAT »;
- les analyses pouvant être « de routine » ou effectuées sur demande spéciale, selon la nature du spécimen;
- les critères d'acceptation ou de rejet des échantillons.

8.2 Prélèvement pour les techniques de mise en culture

Les procédures relatives au prélèvement des échantillons de microbiologie pour la mise en culture doivent tenir compte des exigences de survie des organismes recherchés.

8.3 Prélèvement pour les échantillons fixés

Les instructions concernant le prélèvement doivent maintenir l'intégrité des structures recherchées.

8.4 Prélèvement pour les analyses immunologiques ou moléculaires

Les instructions techniques concernant le prélèvement pour les analyses immunologiques ou moléculaires doivent viser le maintien de l'intégrité du marqueur recherché.

Note : L'Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec (AMMIQ) a publié des guides de pratique pour le diagnostic des infections causées par les virus influenza A et B et pour la sérologie de l'hépatite^{48,66}.

8.5 Prélèvement avec écouvillons

Les écouvillons sont utilisés pour le prélèvement de plusieurs types de spécimens de microbiologie. Il est crucial que les personnes qui effectuent les prélèvements connaissent les différents écouvillons et utilisent celui qui est approprié pour l'analyse demandée²⁴.

Note : Les écouvillons munis d'une tige en bois peuvent contenir des produits toxiques qui risquent d'inactiver le virus de l'*Herpès simplex* et d'interférer avec certaines méthodes d'identification de l'*Ureaplasma*²⁴.

8.6 Prélèvement effectué par le patient

Lorsque le prélèvement est effectué par le patient lui-même (urine, selles, expectorations, etc.), celui-ci doit recevoir un feuillet d'instructions détaillant la méthode de prélèvement ainsi que de conservation et de transport de l'échantillon.

De plus, une personne qualifiée remettra au patient le matériel requis et lui expliquera adéquatement la procédure à suivre⁴⁷.

9.0 Conservation et transport des échantillons de microbiologie

Le milieu de transport approprié et le contenant à utiliser ainsi que le délai et les conditions de conservation et de transport des échantillons doivent être documentés. Ces informations doivent figurer dans le manuel de prélèvement (voir le point 8.1).

Les milieux de transport sont conçus pour préserver et maintenir l'intégrité de l'échantillon pour la période qui s'écoule entre la collecte et le traitement par le laboratoire²⁶.

La conservation et le transport des échantillons de microbiologie sont souvent cruciaux pour la qualité de l'analyse.

Le technologiste médical qui travaille en microbiologie ou qui effectue les prélèvements devrait connaître les conditions d'utilisation des différents milieux de transport, les limitations qui s'appliquent et les interférences possibles²⁶.

Les points qui suivent décrivent les critères d'utilisation pour différents milieux de transport.

9.1 Milieux de transport pour les techniques de mise en culture

Afin de permettre l'isolement des germes recherchés, il est impératif d'assurer la viabilité des organismes durant le transport pour les échantillons de microbiologie destinés à la culture²⁶.

Note : L'Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec (AMMIQ) a publié des guides de pratique pour les cultures suivantes : voies respiratoires inférieures³⁷, pus superficiels⁴¹, selles⁴², gorge⁴⁰, sécrétions vaginales³⁸, urines³⁹, et infections à *Streptococcus pyogènes* ou streptocoque bêta-hémolytique du groupe A⁷⁰.

9.1.1 Particularités concernant les virus

Les milieux de transport pour virus sont conçus pour prévenir le dessèchement, maintenir la viabilité des cellules durant le transport et prévenir la surcroissance des bactéries contaminantes²⁴.

Notes :

- Les milieux de Hanks ou de Eagle avec inhibiteurs sont le plus souvent utilisés.
- Les milieux de transport utilisés pour le prélèvement bactériologique sont inadéquats pour les virus et pour le *Chlamydia*²⁴.
- Un milieu au sucrose-phosphate-glutamate contenant une solution d'albumine bovine (BSA=bovine serum albumin) est fréquemment utilisé comme milieu de transport pour le *Chlamydia*, *Mycoplasma* et *Rickettsia*²⁴.

9.1.2 Particularités concernant les champignons

Le délai de transport n'est pas un facteur critique pour la survie des champignons dans les échantillons cliniques.

De façon générale, il est suggéré de conserver au sec les échantillons secs (cheveux, squames, etc.) et d'ajouter quelques gouttes de sérum physiologique afin de conserver l'humidité des petits échantillons humides (p. ex. : les biopsies, etc.)⁴⁹.

9.2 Milieux de transport pour la biologie moléculaire

L'intégrité du marqueur recherché doit être maintenue durant le transport au laboratoire. Les fabricants de sondes génétiques et de systèmes d'amplification (PCR, etc.) recommandent ou fournissent généralement l'écouvillon et le milieu de transport spécifique à utiliser pour les échantillons analysés au moyen de leur système d'analyse²⁴.

9.3 Milieux de conservation pour la recherche de parasites intestinaux

Lorsqu'un échantillon de selles fraîches ne peut être analysé dans un délai de 30 minutes pour des selles liquides, de 1 heure pour des selles semi-solides et de 24 heures pour des selles solides, il est nécessaire d'utiliser un milieu de conservation contenant un fixateur⁵⁰.

Il existe plusieurs fixateurs pouvant être utilisés pour conserver un échantillon de selles en vue d'une recherche de parasites. Chacun de ces milieux a des avantages et des désavantages, et le laboratoire de microbiologie devra choisir le milieu le plus compatible selon sa technique d'analyse. Il est particulièrement important de vérifier que le fixateur ne cause pas d'interférences lorsqu'une technique immunologique est utilisée par le laboratoire⁵⁰.

9.4 Transport de matières infectieuses

Pour le transport de matières infectieuses, vous pouvez consulter, outre les documents de l'OPTMQ, Le *Règlement sur le transport des marchandises dangereuses*), accessible sur le site Internet de Transports Canada :

<https://www.tc.gc.ca/fra/tmd/clair-tdesm-211.htm>.

Note : Pour obtenir plus d'information sur les exigences liées aux délais et aux conditions de conservation générales ainsi que sur le transport des échantillons et de matières infectieuses, veuillez consulter le document de l'OPTMQ intitulé *Transport et conservation des échantillons dans le domaine de la biologie médicale*¹⁴.

10.0 Réception et traitement des échantillons

Le laboratoire doit enregistrer, à la réception, tous les échantillons qu'il reçoit, et noter dans un registre (papier ou électronique) l'heure et la date de réception et de prélèvement si celles-ci n'ont pas été notées au préalable^{1,6}. Tout renseignement additionnel pertinent doit être enregistré. L'identité de la personne ayant reçu les échantillons devrait également être enregistrée¹.

Avant de procéder à l'analyse, le technologiste médical doit s'assurer que l'échantillon reçu est conforme aux critères de qualité déterminés pour l'examen^{16,18}.

La vérification de la qualité de l'échantillon de microbiologie est une étape cruciale quant à la qualité du résultat.

10.1 Critères d'acceptation ou de rejet des échantillons de microbiologie

Une politique sur les critères d'acceptation ou de rejet d'un échantillon doit être établie par chaque laboratoire. Une procédure doit définir les étapes à suivre en cas de non-conformité d'un échantillon^{1,6,12,14,24,50}.

La production de résultats d'analyse représentatifs de l'état clinique du patient est directement liée à la qualité de l'échantillon.

Les éléments suivants devraient être compris dans l'élaboration de la politique sur les critères d'acceptation ou de rejet d'un échantillon :

- la spécificité du site de prélèvement (p. ex. : oreille externe, moyenne ou interne);
- la conformité avec les exigences de la méthode de prélèvement, du délai de conservation et du transport de l'échantillon pour l'analyse demandée;
- l'identification adéquate de l'échantillon, la présence des deux identifiants requis (nom, prénom et numéro d'identification propre au patient) ainsi que les directives additionnelles (lorsque requises);
- la pertinence du spécimen clinique en regard de l'analyse demandée;
- l'échantillon unique (p. ex. : LCR, pièce chirurgicale, etc.);
- l'intégrité de l'échantillon.

Lorsque la qualité de l'échantillon n'est pas acceptable ou que l'identification du patient est douteuse, l'échantillon est rejeté (voir note). Il faut alors rédiger un rapport qui indique que l'analyse n'a pas été effectuée parce que l'échantillon était non-conforme, et en aviser le demandeur.

Le laboratoire doit conserver dans un registre, papier ou électronique, l'origine et la raison de la non-conformité d'un échantillon qui a été rejeté. L'on devrait analyser périodiquement ces données afin de déceler les causes d'erreurs, de recommander des solutions et, ainsi d'améliorer le service.

Attention :

- Lorsqu'il s'agit d'un échantillon **unique** ou d'une situation de **menace vitale** pour le patient, le technologiste médical utilise son jugement dans l'application de ces exigences et met tout en œuvre pour éviter de refuser l'échantillon, l'objectif étant la primauté du **bien-être du patient**.
- Si pour des raisons exceptionnelles, liées au bien-être du patient, un échantillon ne satisfaisant pas aux critères d'acceptabilité est tout de même analysé, le rapport d'analyse doit indiquer la nature du problème¹ et, le cas échéant, devrait comprendre un addenda contenant toutes les informations susceptibles d'avoir un impact sur l'interprétation clinique du résultat par le médecin²⁴.

11.0 Contrôle de la qualité des procédures analytiques

Dans le laboratoire de microbiologie, le contrôle de la qualité englobe les mesures mises en place pour assurer l'exactitude et la précision du résultat des différentes analyses effectuées.

Le technologiste médical, en collaboration avec le médecin microbiologiste-infectiologue, s'assure que chaque méthode d'analyse est assortie d'un système de contrôle de la qualité reconnu et adéquat.

11.1 Critères généraux

Le programme de contrôle de la qualité des procédures analytiques doit respecter au moins les critères suivants :

- Les procédures analytiques doivent être validées, documentées et approuvées. Si des procédures analytiques internes sont utilisées, elles doivent être validées de manière appropriée pour l'utilisation prévue et parfaitement documentée¹.
- Il doit exister une procédure pour toutes les techniques d'analyse.
- Toute modification apportée à une technique doit être validée, datée, documentée et approuvée.
- Le laboratoire doit concevoir des systèmes de contrôle interne de la qualité permettant de vérifier que la qualité prévue des résultats est bien obtenue¹.
- Les résultats des contrôles doivent être enregistrés, datés et paraphés. Ils doivent faire l'objet d'une évaluation et d'un suivi périodique effectués par le responsable. Cette information doit être transmise au personnel.
- Lorsqu'un résultat du contrôle de la qualité est non conforme, des actions correctives doivent être apportées, documentées et révisées par une personne responsable.
- L'on devrait mettre en place un mécanisme de traçabilité pour pouvoir suivre chaque étape de l'analyse (lorsqu'applicable).

11.2 Enregistrement d'une non-conformité

Le technologiste médical signale tout mauvais fonctionnement du matériel (réactifs, équipements, souches de contrôle, etc.) ou toute situation potentiellement dangereuse (p. ex. : une erreur technique).

L'enregistrement d'une non-conformité sert à décrire et à répertorier objectivement les problèmes susceptibles de survenir dans le laboratoire et qui ont une incidence sur le service rendu au patient ou la sécurité du personnel. Il sert aussi à consigner la cause et à noter la correction immédiate et/ou l'action corrective apportées⁶.

L'analyse de l'information recueillie dans l'enregistrement permet d'évaluer la nature des problèmes et d'améliorer la qualité du service⁶.

Pour obtenir plus amples informations sur le contrôle des non-conformités, vous référer au document de l'OPTMQ intitulé *La qualité dans les laboratoires de biologie médicale*.

12.0 Contrôle externe de la qualité

Le laboratoire de microbiologie doit participer à un programme d'évaluation externe de la qualité pour toutes les procédures analytiques qu'il offre¹.

Lorsqu'il n'existe pas de programme d'évaluation externe de la qualité pour une ou plusieurs procédures analytiques, le laboratoire devrait mettre en place une procédure d'évaluation de la conformité¹. Le laboratoire peut, dans ce cas, participer à un programme de comparaison interlaboratoires pour évaluer la conformité de ces procédures¹.

Les résultats sont évalués périodiquement par le personnel désigné et, le cas échéant, des actions correctives sont mises en œuvre. Ces résultats sont transmis au personnel et une discussion a lieu avec celui-ci¹.

Les échantillons fournis lors de ces programmes devraient être analysés et traités de la même façon que les échantillons provenant du patient¹.

Le contrôle externe de la qualité et le système de comparaison interlaboratoires sont des outils utiles pour la formation continue du personnel. Le personnel des différents quarts de travail devrait y participer.

13.0 Équipements

Les équipements sont une composante importante du processus analytique. Malgré la performance accrue des fonctionnalités des équipements, le technologiste médical doit en connaître le fonctionnement et demeurer vigilant quant à leur utilisation^{1,6}.

13.1 Exigences générales

Les équipements de laboratoire doivent être conformes aux spécifications se rapportant à l'analyse concernée. La vérification de cette conformité doit être faite lors de l'installation ainsi qu'au cours de l'utilisation régulière^{1,6}.

Pour obtenir de plus amples informations, vous référer au document l'OPTMQ intitulé *La qualité dans les laboratoires de biologie médicale*.

13.2 Entretien préventif et contrôle de la qualité

Le laboratoire doit avoir un programme d'entretien préventif et de contrôle de la qualité pour les équipements. Le calendrier doit respecter au minimum les recommandations du fabricant ainsi que d'autres références pertinentes (voir l'annexe 3)^{1,2}.

13.2.1 Enregistrer, dater et parapher

Le technologiste médical enregistre toutes les interventions liées à l'entretien préventif et au contrôle de la qualité, et il les date et les parapher⁶.

13.3 Documentation relative à chaque équipement

Une documentation appropriée doit être établie pour chaque appareil. Celle-ci devrait contenir les indications suivantes¹ :

- l'identification, unique, de chaque équipement d'analyse et de son logiciel;
- l'identification du fabricant et de la personne contact ainsi que le numéro de téléphone du fournisseur;
- la date de mise en service;
- les vérifications de la conformité de l'équipement aux spécifications exigées pour l'analyse, effectuées lors de l'installation, de l'usage de routine et après une réparation, ainsi que les enregistrements qui en découlent;
- les procédures et instructions à jour concernant l'utilisation et le fonctionnement de l'équipement, dont le manuel du fabricant;
- les procédures quant au contrôle de la qualité et aux enregistrements qui en découlent;
- les procédures d'entretien préventif et les instructions d'entretien nécessaires pour garantir le bon fonctionnement, ainsi que les enregistrements qui en découlent.

Pour obtenir de plus amples informations, vous référer au document de l'OPTMQ intitulé *La qualité dans les laboratoires de biologie médicale*.

13.3.1 Procédures en cas de défektivité

Des procédures écrites devraient établir les mesures à prendre en cas de défektivité mineure ou majeure de l'équipement⁶.

Pour obtenir de plus amples informations, vous référer au document de l'OPTMQ intitulé *La qualité dans les laboratoires de biologie médicale*.

13.4 Exigences spécifiques à certains équipements

Les points qui suivent décrivent les exigences spécifiques concernant certains des équipements faisant partie directement ou indirectement du processus analytique dans un laboratoire de microbiologie.

L'annexe 3 décrit l'entretien préventif et le contrôle de la qualité des équipements énumérés ci-dessous.

13.4.1 Autoclave

Les trois paramètres essentiels pour assurer l'efficacité de la stérilisation à l'autoclave sont le temps d'exposition à la vapeur, la température et le niveau de pression. Chaque cycle d'utilisation est contrôlé pour assurer que la pression adéquate, la température et la durée du cycle ont été atteintes; ces données sont enregistrées et conservées¹⁹.

Pour s'assurer que le processus de stérilisation à 121°C/15 minutes soit efficace, les autoclaves devraient être contrôlés, au minimum chaque semaine, à l'aide d'un indicateur biologique^{19,50}. L'utilisation d'un indicateur chimique permet de vérifier seulement que les conditions minimales de stérilisation (température et temps) ont été respectées⁵⁰.

13.4.2 Balance

Les balances sont des instruments sensibles qui devraient être installées dans un endroit où les facteurs d'influence, spécifiés par le fabricant, sont contrôlés.

La balance de précision devrait être installée dans un endroit exempt de vibrations et de courants d'air¹⁵. La balance doit être propre et parfaitement de niveau^{15,51}.

Le calibrage de la balance doit être contrôlé à l'aide de poids étalons^{15,51}. Ces poids étalons doivent être accessibles, bien entretenus (dépourvus de corrosion) et certifiés régulièrement^{7,15,51}. Les résultats du calibrage doivent être enregistrés, datés et paraphés.

13.4.3 Chambre anaérobie

Voir l'annexe 3 pour le calendrier d'entretien préventif et de contrôle de la qualité.

13.4.4 Incubateur

Chaque laboratoire de microbiologie doit avoir au moins un incubateur à atmosphère en CO₂³² ou l'équivalent.

En général, la limite de tolérance acceptable de variation de température pour un incubateur est de ± 2 °C^{7,32}.

13.4.5 Jarre et sac pour incubation en atmosphère contrôlée

Pour de petits volumes de milieux de culture nécessitant une incubation dans une atmosphère contrôlée (microaérophilie, anaérobie et enrichie de gaz carbonique), la jarre ou le sac d'incubation sont adéquats³².

Pour les jarres à chandelles, utiliser des chandelles blanches non odorantes, parce que les vapeurs chimiques qui produisent l'odeur pourraient inhiber la croissance de certaines bactéries³². L'utilisation d'une souche de contrôle dépendante de CO₂ telle que le *N. gonorrhoeae* permet de vérifier le bon fonctionnement.

13.4.5.1 Catalyseurs

Les catalyseurs doivent être régénérés après chaque usage et conservés dans un endroit sec³².

Pour régénérer les catalyseurs après chaque usage, chauffer le panier contenant les pastilles catalytiques pendant au moins deux heures à une température s'établissant entre 160 et 170 °C³².

Les pastilles catalytiques composant le catalyseur doivent être en quantité suffisante et le trois quarts de celles-ci doivent être intactes (ne laissant pas voir l'intérieur gris)³². Un paquet de pastilles catalytiques pèse $2,5 \pm 0,05\text{g}$; en utilisant ce poids comme référence, peser les paniers utilisés : si le poids est égal ou inférieur à 10% du poids recommandé, ajouter d'autres pastilles catalytiques³².

13.4.5.2 Souches de contrôle pour atmosphère contrôlée

Pour le contrôle de la qualité des jarres et des sacs d'incubation en atmosphère contrôlée, utiliser des souches de contrôle reconnues et acceptées (voir le point 15.1 et l'annexe 3)³².

13.5 Équipements à température contrôlée

Les équipements dont le contrôle de la température a une incidence sur l'analyse ou sur la conservation du matériel de laboratoire doivent être munis d'un thermomètre^{32,53}. L'exactitude des thermomètres doit être vérifiée annuellement à l'aide d'un thermomètre de référence, lequel doit être certifié régulièrement^{32,53}.

Voir l'annexe 3 pour le calendrier d'entretien préventif et de contrôle de qualité des équipements.

13.5.1 Limites de tolérance

Les limites supérieure et inférieure de la marge de température permise doivent être déterminées pour chaque appareil et pour chaque équipement. Ces limites sont établies en fonction des exigences de l'analyse ou du produit.

La limite de tolérance généralement suggérée pour les équipements à température contrôlée est la suivante^{7,32}:

- incubateur : ± 2 °C
- bain-marie et bloc chauffant : ± 1 °C
- réfrigérateur : ± 3 °C
- congélateur à -20 °C : ± 5 °C
- congélateur à -65 °C : ± 10 °C

13.6 Équipements volumétriques : micro-pipette, anse calibrée, distributeur, etc.

L'exactitude et la précision des équipements volumétriques doivent être vérifiées avant la première utilisation, après chaque activité d'entretien préventif ou correctif, et selon des intervalles spécifiques à l'usage - au minimum une fois l'an⁷.

Voir l'annexe 3 pour le calendrier d'entretien préventif et de contrôle de qualité des équipements.

13.7 Microscope et micromètre oculaire

Le technologiste médical doit effectuer l'ajustement et l'entretien du microscope qu'il utilise. L'ajustement du microscope (éclairage de Köhler) doit être effectué régulièrement⁶⁴. Un microscope ajusté et entretenu de façon optimale est un élément essentiel à l'exactitude et à la précision de tout examen microscopique.

L'utilisation d'un micromètre oculaire (placé dans l'oculaire de mesure) est incontournable pour mesurer la taille d'un protozoaire ou de tout autre organisme^{52,54}. Ce facteur est souvent déterminant pour l'identification de celui-ci.

Voir l'annexe 3 pour le calendrier d'entretien préventif et de contrôle de qualité des équipements.

13.8 pH mètre

L'ajustement précis du pH des solutions est très important en microbiologie³².

Il est primordial de respecter les recommandations du fabricant concernant l'entretien et l'ajustement de l'équipement, et de respecter les exigences décrites dans le manuel d'instruction du produit.

Voir l'annexe 3 pour le calendrier d'entretien préventif et de contrôle de qualité des équipements.

13.9 Lecteur optique de plaques immuno-enzymatiques

La linéarité, l'exactitude, la précision, l'état de la diode et l'alignement mécanique du lecteur optique de plaques immuno-enzymatiques (EIA) doivent être vérifiés tous les six mois⁵⁹ (ceci ne remplace pas l'utilisation obligatoire d'un contrôle positif et d'un contrôle négatif à chaque série d'analyses).

Voir l'annexe 3 pour le calendrier d'entretien préventif et de contrôle de la qualité des équipements.

13.10 Verrerie de laboratoire

Le laboratoire doit établir et appliquer une procédure de vérification et de contrôle de la verrerie de laboratoire réutilisable³⁰.

La verrerie de laboratoire doit être propre et exempte de contaminants pouvant causer une interférence au niveau de l'analyse. La qualité de l'eau de rinçage (voir la section 14.6) est donc très importante pour faire en sorte que la verrerie soit exempte de résidus, de minéraux (calcium, magnésium, fer, etc.), de détergents ou d'autres contaminants³⁰.

13.10.1 Contrôle de la qualité de la verrerie

Pour le contrôle de la qualité de la verrerie, il est recommandé d'effectuer³⁰ :

- un contrôle visuel de la verrerie visant à vérifier l'intégrité et la propreté; et
- un contrôle chimique à l'aide d'un indicateur de pH au bleu de bromothymol 0,04 %.

14.0 Réactifs

Pour cette section du document, les réactifs comprennent tous les produits utilisés au cours d'une analyse de microbiologie (p. ex. : colorants, produits chimiques, trousse commerciales, agents antimicrobiens, etc.).

Un contrôle positif et négatif effectué à l'aide de souches de contrôle, telles que définies au point 15.1, doivent être effectués pour assurer l'efficacité des solutions chimiques et biologiques, des réactifs et des antisérums utilisés en microbiologie⁵⁸.

Les exigences générales concernant le contrôle de la qualité des réactifs sont décrites dans le document de l'OPTMQ intitulé *La qualité dans les laboratoires de biologie médicale*.

L'annexe 4 présente un exemple de la fréquence des contrôles à effectuer pour vérifier la qualité des réactifs en microbiologie.

14.1 Gestion des réactifs en microbiologie

Une politique et une procédure de gestion des réactifs doivent être établies et appliquées^{1,15,19}. Elles doivent, sans y être limitées, comprendre⁷:

- la vérification des réactifs avant leur utilisation, ce qui comprend l'étiquetage, l'inscription de la date de réception, de préparation (lorsqu'applicable), d'ouverture et de péremption, ainsi que l'identification de chacune des personnes participant au processus;
- le maintien et l'utilisation de souches de contrôle reconnues et acceptées (voir le point 15.1) afin de vérifier les réactifs, les disques d'antibiotiques, etc.¹⁵;
- la détermination de la fréquence d'utilisation des contrôles (voir l'annexe 4);
- la conservation des produits conforme aux recommandations du fabricant;
- la prise de connaissance et la conservation des monographies des produits et des certificats d'analyse;
- la gestion des produits périmés;
- l'évaluation des produits équivalents avant leur utilisation.

14.2 Antimicrobiens

On utilise les antimicrobiens pour déterminer leur action *in vitro* sur les microorganismes infectieux isolés à partir d'un échantillon.

Les antimicrobiens doivent être conservés de façon appropriée afin que soient maintenues leur intégrité et leur activité antimicrobienne optimale.

Lorsque les cartouches de disques ou les bandelettes d'antimicrobiens sont retirées de leur emballage initial scellé, elles doivent être conservées dans un contenant étanche renfermant un agent de dessiccation approprié. Les contenants doivent avoir atteint la température de la pièce avant leur ouverture²⁹.

14.3 Colorants

Pour assurer la qualité des colorants^{7,32}:

- vérifier leur apparence chaque jour;
- les filtrer (p. ex., cristal violet, safranine) lorsqu'il y a présence d'un sédiment ou d'un précipité;
- évaluer leur intégrité physico-chimique et réactionnelle à l'aide de contrôles³² (voir l'annexe 4 de ce document);
- les conserver de façon à respecter leur intégrité physico-chimique.

14.4 Antisérums

Les antisérums achetés sur le marché devraient être testés avec les souches de contrôle correspondantes recommandées par le fabricant à chaque nouveau lot et tous les 6 mois³².

14.5 Trousses commerciales

La date de péremption doit être inscrite sur la trousse commerciale. Le contrôle de la qualité devrait être effectué selon les recommandations du fabricant et à chaque réception d'un lot³². Les composants d'une trousse ne peuvent être échangés avec ceux d'une autre trousse portant un numéro de lot différent³².

14.6 Eau de laboratoire

Le laboratoire de microbiologie devrait connaître le type d'eau utilisé dans chacune de ses procédures et activités (exemple : type I, II ou III selon la norme CLSI). La qualité de l'eau devrait être contrôlée périodiquement.

L'Institut national de Santé publique du Québec a produit un guide de pratique sur la qualité de l'eau décrivant les lignes directrices à respecter concernant la norme la plus utilisée dans un laboratoire clinique³⁰. Ce guide est disponible en version intégrale à l'adresse suivante :

http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/143_QualiteEauLaboratoire.pdf

15.0 Souches de contrôle de référence

Les souches de contrôle de référence sont un élément essentiel à tout programme de contrôle de la qualité en microbiologie et leur utilisation doit être documentée.

15.1 Choix des souches de contrôle

Les souches de contrôle doivent avoir des caractéristiques représentatives de leur espèce, être pures et être stables^{7,35}.

Le nombre de repiquage des souches de contrôle primaires devrait être documenté et, de façon générale, limité à trois. Éviter les repiquages multiples en série^{7,25}.

Outre les souches de référence de l'ATCC (American Type Culture Collection), les souches de contrôle connues et acceptées peuvent avoir une des provenances suivantes^{7,27}:

- contrôle externe de la qualité;
- origine clinique, confirmée par un laboratoire de référence;
- disques commerciaux; ou
- organismes identifiés et de phénotypes stables isolés de patients.

15.2 Conservation des souches de contrôle

La méthode et la durée de conservation des souches de contrôle doivent viser le maintien des caractéristiques de l'espèce et minimiser les possibilités de contamination²⁷.

La congélation des souches de contrôle à -70°C demeure la méthode la plus utilisée pour la conservation à long terme. Les souches de contrôle peuvent se conserver indéfiniment à cette température³².

16.0 Milieux de culture

16.1 Critères généraux

- Chaque lot de milieux de culture doit être contrôlé, et sa capacité nutritive doit être vérifiée avec des souches de contrôle connues et acceptées²⁵ (voir le point 15.1).
- Les critères de performance des milieux de culture devraient être documentés à partir de références reconnues³².

Note : Le document du CLSI M22 est une référence reconnue qui peut être utilisée pour établir la procédure à suivre pour vérifier la performance de chacun des milieux²⁷.

- Les résultats des contrôles de la qualité doivent être enregistrés, datés, paraphés et suivis¹.

16.2 Milieux de culture préparés sur place

Le laboratoire devrait établir, pour la préparation et le contrôle de la qualité des milieux de culture préparés sur place, des procédures qui tiennent compte des éléments suivants^{25,27,32} :

- Chaque lot de milieu de culture préparé sur place devrait être contrôlé, et les paramètres suivants devraient être vérifiés^{7,28}:
 - le pH final;
 - l'apparence;
 - le format, le volume, l'épaisseur lorsque pertinent (p. ex., le milieu pour Kirby-Bauer);
 - la contamination;
 - la performance.
- Conserver un enregistrement de la quantité de milieu préparé, de la source, du numéro de lot, de la méthode de stérilisation, de la date de préparation, du pH, de la date de péremption, et du nom de la personne qui a préparé le milieu³².

- Vérifier qu'il n'y a pas de contamination du milieu en incubant un échantillonnage du milieu pour au minimum 48 heures à la température à laquelle il sera utilisé ainsi que, de préférence, un autre échantillonnage laissé 48 heures à la température de la pièce³².
- Les critères de performance des souches de contrôle pour les différents milieux doivent être conformes aux résultats prévus décrits dans les documents de référence tels que le CLSI M22²⁷ ou autres références pertinentes.

16.2.1 Établir la péremption du milieu de culture

Il est impératif que chaque laboratoire détermine la péremption des milieux de culture qu'il fabrique³². Plusieurs facteurs peuvent influencer sur la qualité et la stabilité d'un milieu.

16.3 Milieux commerciaux prêts à l'emploi

Les milieux de culture commerciaux prêts à l'emploi ne doivent pas être utilisés avant d'avoir été vérifiés et déclarés conformes aux spécifications et aux exigences de qualité définies pour leur utilisation¹.

16.3.1 Vérification de la conformité des milieux commerciaux prêts à l'emploi

Cette vérification de la conformité du milieu de culture commercial prêt à l'emploi comporte les étapes suivantes :

1. Le contrôle de la qualité de la performance à l'aide de souches appropriées et la vérification de l'acceptabilité des résultats obtenus¹ :
 - l'utilisateur doit contrôler la performance des milieux sélectifs, des milieux instables - qui varient d'un lot à l'autre – ainsi que de certains milieux utilisés pour les organismes fastidieux tels que décrits dans les documents de référence, dont le CLSI, M22^{27,32};
 - généralement, l'utilisateur n'est pas dans l'obligation de contrôler les autres types de milieux de culture commerciaux prêts à l'emploi, à condition d'avoir obtenu le certificat d'analyse du fabricant et d'avoir vérifié que les conditions de transport sont adéquates;
2. L'examen des milieux lors de chaque livraison, afin de vérifier^{27,28} :
 - l'absence de contamination;
 - l'apparence et l'épaisseur;
 - l'évidence d'une surchauffe ou d'une congélation;
 - le bris de la boîte de pétri ou du tube;

- le certificat d'analyse du fabricant. Cette certification prouve que le fabricant a respecté les normes de performance émises par un organisme reconnu (p. ex. le CLSI);
- Le fabricant doit certifier, par écrit (monographie, insertion, etc.) que le produit est conforme aux normes de contrôle de performance. Le laboratoire doit conserver cette information au même titre qu'un enregistrement de contrôle^{27,32}.

17.0 Parasitologie intestinale

Afin de standardiser les méthodes d'analyse en vigueur et de contribuer à préserver la qualité des analyses dans le domaine du diagnostic des parasites intestinaux, il est recommandé de se référer au guide de pratique : *Compte rendu des travaux du Comité de parasitologie de l'AMMIQ*⁵⁴.

17.1 Collecte et conservation de l'échantillon de selles

La procédure écrite pour la collecte et la conservation de l'échantillon de selles doit contenir, sans s'y limiter, les informations suivantes^{54,64,65} :

- le nombre d'échantillons devant être recueillis et l'intervalle de temps requis entre deux collectes;
- le fixateur requis, par exemple le SAF (Sodium Acetate-Acetic Acid-Formalin);
- l'indication de la quantité de selles à ajouter dans le fixatif et de la nécessité de bien homogénéiser les selles pour assurer une fixation adéquate de l'ensemble des parasites présents;
- le délai d'envoi au laboratoire pour les selles fraîches, s'il y a lieu; dans ces cas particuliers, il faut établir une entente préalable avec le laboratoire afin de rendre possible l'examen dans les délais adéquats (p. ex., moins de 30 minutes après l'émission de selles liquides, ou pour la recherche de trophozoïtes mobiles)^{54,64}. Cependant, cet examen ne remplace pas les examens standard mentionnés plus loin (concentré et colorations permanentes);
- les interférences médicamenteuses (p. ex. : baryum, bismuth, huile minérale, antiacides, antibiotiques, etc.⁶⁴);
- la méthode de prélèvement de l'échantillon permettant d'éviter les interférences dues à la contamination de l'échantillon (p. ex. : eau, urine, etc.⁶⁴).

Note : Dans le guide de pratique en parasitologie de l'AMMIQ, on trouve la recommandation suivante⁵⁴ :

« Pour tenter de minimiser la surcharge de travail causée par une analyse complète des échantillons, le Comité recommande l'obtention de deux échantillons en routine, au lieu de trois. De plus, il insiste sur l'utilisation de critères justifiant la recherche de parasites dans les selles, afin de diminuer la prescription d'examens mal ciblés. »

17.2 Analyse des échantillons de selles : concentration et colorations permanentes

Pour chacun des échantillons reçus, un examen du concentré (iode) et un examen du culot de lavage (coloration permanente) devraient être effectués⁵⁴.

Note : Dans le guide de pratique en parasitologie de l'AMMIQ, on trouve la recommandation suivante⁵⁴ :

« 1. Bien que conscient de la difficulté d'implantation, le Comité recommande pour chacun des spécimens reçus, un examen du concentré (iode) et un examen du culot de lavage (coloration permanente). Il appartiendra aux laboratoires voulant différer de cette norme reconnue, de démontrer l'équivalence de leur pratique. »

L'hématoxyline ferrique modifiée est la coloration permanente recommandée pour la recherche de parasites dans les selles⁵⁴.

Par ailleurs, l'on effectue la recherche de pathogènes spécifiques (*Cryptosporidium*, *Microsporidies*, etc.) sur demande, en respectant les critères préétablis par chaque laboratoire⁵⁴. Les laboratoires qui ont peu d'expertise dans ce domaine ou qui ne reçoivent pas le nombre de demandes nécessaire pour effectuer des colorations particulières doivent diriger les demandes occasionnelles vers un autre laboratoire hospitalier ou de référence⁵⁴.

17.2.1 Contrôle de la qualité des colorations permanentes

Pour le contrôle de la qualité des colorations permanentes, des frottis de contrôle doivent être inclus à chaque coloration (p. ex. *D. fragilis* pour l'hématoxyline et *Cryptosporidium* pour la coloration de Kinyoun)⁵⁴.

Note : Des lames de contrôle peuvent être préparées à partir d'un échantillon positif confirmé par un laboratoire de référence et conservées pour usage ultérieur.

17.3 Microscopie en parasitologie

L'utilisation d'un micromètre oculaire est incontournable pour la parasitologie⁶⁴. L'ajustement du microscope (éclairage de Köhler) doit être effectué régulièrement⁶⁴. Un objectif 40X ou 50X (huile) devrait être utilisé pour faciliter le dépistage des parasites sur les frottis colorés (coloration permanente). L'objectif 100X (huile) est utilisé en complémentarité pour l'examen détaillé des parasites observés.

Les recommandations minimales pour la durée de lecture des frottis colorés sont les suivantes^{54,55} :

- de 7 à 10 minutes pour le concentré (iode);
- de 8 à 15 minutes pour le culot de lavage (coloration permanente).

La durée de lecture peut varier selon l'expertise des technologistes et la qualité des échantillons, ainsi que le nombre et la variété d'espèces présentes.

17.3.1 Étalonage du micromètre oculaire

L'étalonnage du micromètre oculaire doit être effectué pour chacun des objectifs du microscope⁶⁴. L'on effectue cet étalonnage en comparant l'échelle du micromètre oculaire à l'échelle graduée du micromètre étalon⁶⁴.

Voir l'annexe 3 pour le contrôle de la qualité.

17.4 Cultures en parasitologie intestinale

La mise en évidence de certains parasites tels qu'*Acanthamoeba*, ou *Strongyloides*, peut être effectuée par culture sur des milieux spécifiques aux exigences de croissance de l'espèce recherchée⁵⁰. La culture s'effectue généralement à partir d'un échantillon de selles fraîches n'ayant pas été réfrigéré³².

17.4.1 Culture pour *Acanthamoeba*

La culture en gélose pour la mise en évidence d'*Acanthamoeba* est très sensible et facilite le dépistage de ce parasite⁵⁰. Un examen direct du prélèvement peut également permettre de le repérer.

17.4.2 Culture pour *Strongyloides*

Les larves de *Strongyloides stercoralis* sont les larves les plus fréquemment trouvées dans un échantillon de selles.

La culture de selles est utile à la recherche de ces parasites, car elle révèle leur présence lorsque leur nombre est trop faible pour être identifié par une méthode de concentration. Elle favorise le développement de la larve jusqu'au stade strongyloïde, ce qui en facilite le dépistage^{32,50}.

17.5 Contrôle de la qualité en parasitologie

Le contrôle de la qualité en parasitologie devrait comprendre, sans s'y limiter, les éléments suivants :

- Les laboratoires devraient effectuer le calcul de leur taux de positivité de parasites. Une fois établi, ce taux peut servir d'indicateur de qualité pour l'ensemble des étapes de l'analyse.
- Lors de l'examen d'échantillons multiples d'un même patient, des résultats différents devraient par la suite être comparés et toute discordance résolue avant l'émission du résultat, s'il y a lieu⁵⁵.
- L'on pourrait mettre en œuvre un contrôle interne périodique effectué à l'aveugle, dont on évaluerait les résultats.
- Tous les laboratoires qui effectuent des analyses de parasitologie devraient envoyer à un laboratoire de référence les échantillons pour lesquels une confirmation d'identification s'avère nécessaire (échantillons positifs ou douteux).

À titre indicatif, il faudrait envoyer au moins 2% des échantillons de routine pour une deuxième analyse de vérification, puis évaluer et comparer les résultats. En ce qui concerne les laboratoires ayant une quantité limitée d'échantillons positifs, ils devraient faire vérifier de la sorte au moins 10% de leurs échantillons de routine⁵⁵.

- L'identification de tous les organismes rares ou rarement observés devrait être confirmée par un laboratoire de référence⁵⁵.
- Les laboratoires doivent participer à un programme de contrôle externe de la qualité (p. ex. : programme du LSPQ)^{1,54,55}.

17.6 Maintien de l'expertise en parasitologie

Les technologistes médicaux qui travaillent en parasitologie doivent avoir reçu une formation en cours d'emploi en parasitologie et bénéficier d'un soutien adéquat dans le domaine. Ils doivent tenir à jour leurs connaissances théoriques et pratiques ainsi que leur expertise en examinant un nombre suffisant d'échantillons contenant des parasites diversifiés^{54,55,64}.

Le matériel didactique, comprenant une collection d'échantillons de parasites diversifiés (voir le point 6.0 de ce document), doit être disponible sur place.

Note : Un stage de formation périodique visant le maintien de l'expertise est souhaitable.

17.7 Émission du rapport

Le rapport devrait être disponible dans un délai raisonnable, soit un délai de 5 jours ouvrables⁵⁴. Un rapport préliminaire devrait être émis pour tout échantillon nécessitant une confirmation⁵⁴.

18.0 Parasites extra-intestinaux

18.1 Culture des voies génitales : *Trichomonas vaginalis*

La méthode de mise en culture est la plus sensible pour la recherche et l'identification du *Trichomonas vaginalis*³². Cependant, il peut s'écouler un délai de 3 à 4 jours avant l'obtention du résultat³².

18.2 Parasites sanguins

La recherche et l'identification des parasites sanguins ont déjà été abordées et décrites dans le document de l'OPTMQ intitulé *Hématologie*⁶⁷.

18.3 Parasites tissulaires

La recherche et l'identification des parasites tissulaires s'effectuent par examen direct et par mise en culture.

L'*Onchocerca volvulus* est un parasite humain (filaire) qui s'introduit dans les tissus sous-cutanés et y forme des nodules. C'est par une biopsie de la peau (examen direct) que l'on obtient le meilleur échantillon pour la recherche et l'identification des microfilaires⁵⁰.

Le *Mansonella streptocerca* est une autre filaire qui vit sous la peau. La recherche et l'identification des microfilaires s'effectuent également à partir d'une biopsie de la peau (examen direct). Il faut faire particulièrement attention à bien le différencier de l'*Onchocerca volvulus*, parasite également présent en Afrique⁵⁰.

La culture des *Leishmania* spp. facilite le diagnostic clinique de la présence de ce parasite. Les échantillons pour la culture proviennent le plus fréquemment de biopsies de la peau ou d'aspirations de la moelle épinière³². Un examen direct du prélèvement sur frottis coloré peut également permettre d'établir le diagnostic.

19.0 Mise en culture et identification bactérienne

Les procédures doivent être écrites pour chacun des types de spécimen selon les divers sites corporels¹⁵. Elles doivent être rédigées en collaboration et en accord avec le spécialiste responsable du secteur. Elles doivent être appuyées par des références reconnues et adaptées aux exigences des microorganismes recherchés ainsi qu'à l'origine et à la nature du spécimen.

19.1 Procédures relatives à l'identification bactérienne

Ces procédures devraient comprendre, sans toutefois s'y limiter :

- la méthode d'ensemencement de l'échantillon ainsi que l'examen direct lorsque requis;
- la sélection et le nombre de milieux de culture à ensemercer, ainsi que l'environnement approprié en fonction du type de spécimen, du site anatomique, de l'agent recherché et des renseignements cliniques¹⁵;
- la liste des microorganismes recherchés pour chacun des types de spécimen et des sites anatomiques¹⁵;
- les critères et méthodes d'évaluation et d'identification des organismes recherchés : par exemple, l'examen microscopique (Gram, coloration spéciale, etc.) ou l'épreuve biochimique et sérologique;
- le cheminement critique menant à l'identification, décrit en détail;
- la méthode de standardisation pour l'évaluation et l'interprétation du frottis, clairement décrite et appliquée;
- la méthode de standardisation pour l'évaluation quantitative des colonies, clairement décrite et appliquée;
- les épreuves de sensibilité aux antibiotiques établies selon des normes reconnues (p. ex. : CLSI);
- le contrôle de la qualité;
- l'interprétation des résultats;
- les interférences et autres précautions particulières;
- les résultats critiques et la procédure à suivre pour la transmission du résultat;
- les résultats nécessitant l'émission d'un rapport préliminaire;
- les références bibliographiques, la date d'entrée en vigueur et la date de révision de la procédure;
- l'identité du rédacteur, du réviseur et de la personne qui approuve la procédure.

Note : L'Association des médecins microbiologistes infectiologues du Québec (AMMIQ) a publié des guides de pratique pour les cultures suivantes : voies respiratoires inférieures³⁷, pus superficiels⁴¹, selles⁴², gorges⁴⁰, sécrétions vaginales³⁸, urines³⁹, et infections à *Streptococcus pyogènes* ou streptocoque bêta-hémolytique du groupe A⁷⁰.

19.2 Contrôle de la qualité des systèmes automatisés d'identification bactérienne

Les procédures de contrôle de la qualité des systèmes automatisés d'identification bactérienne doivent être effectuées selon les recommandations du fabricant et des références pertinentes.

De plus, elles doivent respecter les exigences décrites à la section 11.0 et 13.0 de ce document concernant le contrôle de la qualité et les équipements.

Note : Pour détecter d'éventuelles erreurs dans la banque de données intégrée à l'appareil, il est important d'utiliser son jugement et de s'assurer qu'il y a concordance avec toutes les autres informations liées à l'identification.

20.0 Épreuves de sensibilité aux antibiotiques

Le laboratoire de microbiologie doit adopter des méthodes d'analyse validées et approuvées pour les épreuves de sensibilité aux antibiotiques (antibiogrammes), que ce soit par méthode de dilution en milieu liquide ou en milieu solide, par méthode de diffusion en gélose ou par méthode automatisée^{19,35}.

Des procédures doivent être écrites et mises en application pour les épreuves de sensibilité aux antibiotiques et ce, pour l'ensemble des services du laboratoire de microbiologie¹⁹.

Les critères d'interprétation et de contrôle de la qualité des antibiogrammes doivent être issus d'une documentation médicale reconnue et doivent être appliqués^{29,33,34,35}.

20.1 Normes et guide de référence

Le CLSI est un organisme reconnu pour la publication de normes et de guides de pratique. Les documents suivants décrivent les techniques recommandées, les critères d'interprétation et le contrôle de la qualité pour les épreuves de sensibilité aux antibiotiques :

- M02 : *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*
- M06 : *Protocols for Evaluating Dehydrated Mueller-Hinton Agar*
- M07 : *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*
- M11 : *Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria*
- M23: *Development of In Vitro Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters*

- M24 : *Susceptibility Testing of Mycobacteria, Nocardiae, and Other Aerobic Actinomycetes*
- M26: *Methods for Determining Bactericidal Activity of Antimicrobial Agents*
- M27 : *Reference Method for Broth Dilution Antifungal Susceptibility Testing of Yeasts*
- M100: *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Informational Supplement*

La version la plus récente de ces documents devrait être utilisée.

20.2 Contrôle de la qualité des antibiogrammes

Les procédures de contrôle de la qualité des épreuves de sensibilité aux antibiotiques ont pour objectif de contrôler^{29,35}:

- la précision et l'exactitude des procédures des épreuves de sensibilité aux antibiotiques;
- les facteurs de variation techniques et biologiques de l'activité des agents antimicrobiens pour une bactérie spécifique;
- la compétence de la personne qui effectue l'analyse et la lecture des résultats.

Voir les annexes 5 et 6.

20.2.1 Utilisation de souches de contrôle

Le laboratoire de microbiologie doit conserver et utiliser les souches de contrôle recommandées pour effectuer les épreuves de sensibilité aux antibiotiques.

20.2.2 Concentration minimale inhibitrice (CMI)

Les limites acceptables pour la mesure et l'interprétation du diamètre des zones de réaction et les équivalents en concentration CMI devraient être établies pour chacune des combinaisons antibiotique/souche de contrôle utilisées pour le contrôle de la qualité des antibiogrammes²⁹.

Le document M100 du CLSI présente, à partir de techniques standardisées, les critères pour la mesure et l'interprétation du diamètre des zones de réaction et les équivalents en concentration CMI (concentration minimale inhibitrice) en fonction de l'antibiotique utilisé. Il décrit aussi les conditions d'analyse (milieu, inoculum, incubation, etc.) relatives aux souches de contrôle pour les épreuves de sensibilité aux antibiotiques⁵⁶.

20.2.3 Fréquence des contrôles de la qualité

Les contrôles de la qualité pour chacune des combinaisons antibiotique/souche de contrôle devraient être effectués à chaque journée d'analyse^{29,60}.

Cependant, la fréquence d'utilisation des contrôles peut toutefois se faire de façon hebdomadaire à l'issue d'une étude de 30 jours prouvant la stabilité de l'analyse et des lectures^{29,60}. Cette étude peut être fondée sur les recommandations des documents du CLSI suivants : M2, M7, M11 et M100.

20.3 Sélection du milieu de culture pour antibiogramme

Le milieu solide Mueller-Hinton Agar (MHA) et le milieu liquide Mueller-Hinton (MHB) supplémenté en cations divalents (calcium et magnésium) sont recommandés par le CLSI pour le test de sensibilité aux antibiotiques pour les bactéries pathogènes à croissance rapide (non fastidieuses ou non exigeantes)^{29,33}.

Les procédures de préparation et de contrôle de la qualité du milieu MHA devraient satisfaire aux critères de qualité définis dans les documents du CLSI ou d'autres références reconnues (p. ex. : épaisseur uniforme de 4 mm, délai d'utilisation, stérilité, pH, etc.^{29,35}).

20.3.1 Milieux pour bactéries fastidieuses

Si l'antibiogramme est utilisé pour des bactéries fastidieuses (exigeantes), le milieu de culture, les critères d'interprétation et les procédures de contrôle de la qualité doivent être adaptés à chaque organisme^{29,33}.

Pour se développer, certaines bactéries fastidieuses (exigeantes), telles *Haemophilus* spp., *Neisseria gonorrhoeae*, *Streptococcus pneumoniae* et les streptocoques viridans et β -hémolytique, nécessitent un milieu enrichi. Les milieux enrichis qui conviennent à ces organismes sont décrits dans les documents du CLSI (voir le point 20.1).

20.4 Test de sensibilité aux antibiotiques – Méthode de diffusion en gélose

Le test de sensibilité aux antibiotiques effectué suivant la méthode standardisée de diffusion en gélose avec disques (Kirby-Bauer) est recommandé par le CLSI, M2²⁹. (Voir l'annexe 6)

La standardisation de la méthodologie, ainsi que la corrélation du diamètre des zones d'inhibition avec des CMI (concentration minimale inhibitrice) selon des courbes de concordance établies (par des laboratoires spécialisés) pour chaque antibiotique, sont essentielles à l'obtention de résultats exacts et reproductibles d'antibiogrammes par cette méthode de diffusion en disques^{29,35}.

20.4.1 L'inoculum bactérien

La standardisation de la densité de l'inoculum bactérien est un facteur important pour obtenir une reproductibilité des résultats de l'antibiogramme³⁵.

L'on devrait effectué la standardisation de l'inoculum bactérien pour l'antibiogramme en ajustant la densité du bouillon d'une culture en phase logarithmique de croissance à un tube étalon (généralement selon un standard McFarland de 0,5 ou selon son équivalent en densité optique)^{29,35}.

Les mesures de sécurité doivent être appliquées lors de manipulations techniques susceptibles de produire des aérosols. Par exemple, l'utilisation d'une enceinte de sécurité biologique est recommandée pour la préparation des suspensions bactériennes équivalentes à un McFarland.

Voir les annexes 5 et 6 pour la méthode de préparation de l'inoculum bactérien et les facteurs de qualité importants.

20.5 Autres méthodes manuelles de réalisation d'antibiogrammes

Il existe plusieurs autres méthodes d'épreuves de sensibilité aux antibiotiques (p. ex. : méthodes de dilution en gélose ou en milieu liquide, méthode epsilométrique, etc.). Des procédures validées, approuvées et appuyées par des références reconnues doivent être rédigées pour chacune de ces épreuves.

20.6 Méthodes automatisées de réalisation d'antibiogrammes

L'équipement utilisé pour les méthodes automatisées de réalisation d'antibiogrammes est soumis aux exigences de qualité de l'équipement décrites à la section 13.0, ainsi qu'aux exigences relatives au contrôle de la qualité décrites à la section 12.0 de ce document.

Les forces et les faiblesses du système automatisé en fonction de la méthode utilisée et des résultats prévus doivent être documentées, et cette information doit être appuyée par des publications scientifiques reconnues. Le technologiste médical doit être en mesure de maîtriser toute l'information relative à l'équipement qu'il utilise.

Le contrôle de la qualité des appareils doit être établi en respectant de façon minimale les exigences du fabricant.

20.7 Vérification des résultats de sensibilité aux antibiotiques

Il est important de vérifier chacun des résultats avant d'émettre un rapport de sensibilité aux antibiotiques²⁹.

Cette vérification devrait comprendre, sans toutefois s'y limiter, les éléments suivants :

- les résultats quant à la sensibilité aux antibiotiques concordent avec le microorganisme isolé;
- les résultats de chacun des antibiotiques appartenant à une catégorie spécifique d'antimicrobiens concordent avec les règles hiérarchiques d'activités prévues;
- le microorganisme isolé ne présente pas de résistance inhabituelle aux antimicrobiens.

Pour les résultats inhabituels, le laboratoire doit avoir une procédure qui décrit la marche à suivre.

21.0 Colorations

Toutes les méthodes de coloration utilisées par le laboratoire de microbiologie (coloration de Gram, colorations spéciales, fluorescentes, etc.) doivent être vérifiées à l'aide de contrôles²¹.

L'annexe 4 présente, à partir de références reconnues, un tableau sur les recommandations quant à la fréquence des contrôles de qualité des colorations en microbiologie.

21.1 Méthode standardisée d'observation et d'évaluation microscopique

Le laboratoire de microbiologie doit avoir un système documenté afin d'assurer l'uniformité des observations et des interprétations microscopiques des colorations au sein de l'ensemble du personnel effectuant ce travail²¹.

21.2 Coloration de Gram

L'examen microscopique des colorations de Gram demeure la première analyse diagnostique dans le traitement des échantillons en microbiologie.

Le résultat d'une coloration de Gram sur un échantillon clinique peut avoir un impact important pour le traitement du patient. Il est alors primordial de standardiser l'évaluation semi-quantitative des cellules et des bactéries observées.

Pour contrôler la qualité de la coloration de Gram, les critères suivants devraient être adoptés :

- Les technologistes médicaux qui effectuent la coloration de Gram doivent avoir suivi une formation et bénéficier d'un soutien adéquat, et ils doivent tenir à jour leurs connaissances pratiques ainsi que leur expertise en utilisant des lames ayant des coefficients de difficulté variables, par exemple :
 - un frottis mince : LCR;

- un frottis épais :eExpectorations, sécrétions vaginales;
 - une souche à Gram positif facilement décolorable: Lactobacille;
 - une souche à Gram négatif difficilement décolorable: Acinetobacter .
- Les réactifs pour la coloration de Gram doivent être contrôlés à l'aide d'une souche de contrôle connue positive et négative, pour chaque nouveau lot de colorant et chaque semaine^{7,32}. (Voir l'annexe 4.)

21.2.1 Modèle d'interprétation de la coloration de Gram

Le laboratoire doit avoir une grille d'interprétation des éléments observables adaptée à chaque type de spécimen. L'interprétation quantitative et semi-quantitative des cellules et des bactéries observées sur les colorations de Gram devrait faire l'objet d'une standardisation.

À titre d'exemple, pour la lecture du Gram :

- Effectuer un premier balayage de la surface de la lame à faible grossissement (x100) pour observer toute cellule associable à un processus inflammatoire, puis un deuxième à fort grossissement (x1 000) pour examiner les bactéries.
- Trouver les zones significatives, soit celles ayant le plus grand nombre de neutrophiles, de macrophages et de cellules cylindriques, et le moins de cellules squameuses possible. Puis, y rechercher les bactéries.

Le groupe de travail en microbiologie de la *Canadian Coalition for Quality in Laboratory Medicine* (CCQLM), qui regroupait des spécialistes de la microbiologie à l'échelle du Canada, a proposé le modèle suivant d'interprétation semi-quantitative des éléments de la coloration de Gram⁶¹ :

Grille d'interprétation semi-quantitative de la coloration de Gram, présentée à titre informatif, pour tous les types de spécimen, à l'exception des expectorations et des sécrétions vaginales⁶¹ :

Cellules épithéliales ou polynucléaires		Microorganismes (bactéries, levures, etc.)	
Description	Nombre (x100)	Description	Nombre (x1000)
1+, rare	< 1/ champ	1+, rare	< 1/ champ
2+, minime	1-10/ champ	2+, minime	1-10/ champ
3+, modéré	11-25/ champ	3+, modéré	11-25/ champ
4+, abondant	> 25/ champ	4+, abondant	> 25/ champ

Attention : Pour les liquides biologiques nécessitant une cyto centrifugation ou une préparation semblable, cette grille d'interprétation semi-quantitative ne s'applique pas.

21.2.2 Émission du rapport d'analyse de la coloration de Gram

Le rapport d'analyse de la coloration de Gram devrait spécifier les critères de quantification de la lecture du Gram afin d'en faciliter l'interprétation par le médecin traitant⁶⁰.

Une corrélation entre le résultat de la coloration de Gram et le résultat de la culture devrait être effectuée et enregistrée, datée et paraphée.

21.3 Coloration par fluorescence

En immuno-fluorescence, les recommandations du fabricant et des références pertinentes doivent être suivies, y compris l'utilisation des contrôles. Un contrôle devrait être effectué à chaque série de coloration par fluorescence pour vérifier la réactivité appropriée²¹. Voir l'annexe 4.

Il est important de respecter la durée d'utilisation de la lampe fluorescente recommandée par le fabricant.

21.4 Coloration pour recherche de parasites

Voir le point 17.2 pour les critères de qualité liés à la coloration pour recherche de parasites.

22.0 Contrôle de la qualité en séro-immunologie

Les recommandations qui suivent concernent le contrôle de la qualité des analyses en séro-immunologie¹⁵.

22.1 Généralités sur le contrôle de la qualité

- La technique d'analyse choisie doit démontrer une sensibilité et une spécificité adéquates¹⁵.
- Les recommandations du fabricant quant à l'utilisation des réactifs et des contrôles doivent être suivies¹⁵.
- Un contrôle connu positif et négatif doit être effectué, conformément à la fréquence exigée par la méthode d'analyse¹⁵.
- Les résultats antérieurs des analyses séro-immunologiques devraient être disponibles lors d'une nouvelle demande pour un même patient (p. ex. : la rubéole en cours de grossesse). Un système informatique permet une meilleure gestion des résultats positifs et des sérums congelés correspondants.
- Le laboratoire de microbiologie devrait établir une liste des analyses nécessitant des épreuves de confirmation.

22.1.1 Information sur le rapport d'analyse

Lorsque le résultat de l'analyse est exprimé sous forme de titre ou en format numérique, l'interprétation adéquate de ce résultat doit être jointe au rapport (si applicable)¹⁵.

23.0 Rapport d'analyse

Le technologiste médical utilise sa compétence et son jugement pour fournir un résultat de qualité. De plus, il s'assure que le rapport d'analyse soit communiqué au requérant dans un délai opportun et selon un mode de transmission approprié qui respecte les lois et règlements sur la confidentialité^{1,6}.

Le rapport d'analyse fait partie des activités de l'étape postanalytique du processus d'analyse. Il comprend toutes les activités liées à l'émission du rapport, jusqu'au stade de l'archivage de celui-ci et de la conservation des échantillons⁴.

23.1 Vérification de la validité du résultat d'analyse

Chaque laboratoire doit établir, en accord avec le médecin microbiologiste infectiologue, des politiques et des procédures de vérification de la validité du résultat d'analyse¹.

Les critères de vérification de la validité du résultat sont décrits dans le document de l'OPTMQ intitulé *La qualité dans les laboratoires de biologie médicale*⁶.

Dans le cas de résultats inhabituels ou ne concordant pas avec les données, le laboratoire doit avoir une procédure qui décrit la marche à suivre avant d'émettre un résultat¹.

23.2 Émission du rapport d'analyse

Le laboratoire doit déterminer, en concertation avec les utilisateurs de ses services, les personnes autorisées à transmettre un résultat, le format du rapport d'analyse (papier ou électronique) ainsi que la manière précise dont ce rapport doit leur être communiqué¹.

Les politiques et les procédures relatives à l'émission du rapport d'analyse doivent comprendre, sans s'y limiter, les éléments suivants¹ :

- Préciser les résultats d'analyses de microbiologie qui nécessitent l'émission de rapports préliminaires, ainsi que le mode de transmission et d'enregistrement de ceux-ci.
- Préciser les rapports de maladie à déclaration obligatoire et à caractère épidémiologique, ainsi que le mode de transmission et d'enregistrement de ceux-ci.
- Déterminer le délai opportun entre la réception du prélèvement et la sortie du résultat, en fonction de l'urgence du résultat.

- Décrire les étapes à suivre pour aviser le requérant dans le cas d'un délai d'émission du rapport susceptible d'avoir un impact sur les soins fournis au patient.
- Établir et mettre en place des directives concernant la correction d'erreurs dans les rapports (format papier ou électronique).
- Établir et mettre en place des directives pour l'archivage des résultats et la conservation des échantillons.

Le laboratoire doit aussi standardiser la terminologie et la présentation des rapports d'analyse de microbiologie¹. Les critères de présentation dans le document de l'OPTMQ intitulé *La qualité dans les laboratoires de biologie médicale*⁶.

23.3 Gestion des résultats critiques

Une politique et une procédure pour la gestion des résultats critiques en microbiologie doivent être établies. Elles devraient comprendre, sans toutefois s'y limiter, les éléments suivants^{1,4}:

- la liste des résultats critiques exigeant une intervention rapide pour sauvegarder la vie du patient;
- la liste des personnes autorisées à transmettre et à recevoir un résultat critique;
- une procédure écrite de transmission spécifique et de suivi du résultat, qui doit comprendre l'enregistrement de la date, de l'heure, et des noms de la personne qui transmet le résultat et de celle qui le reçoit.

23.4 Signature des rapports

Le *Règlement sur la tenue des dossiers des technologistes médicaux* et les *Normes de pratique du technologiste médical* imposent que le technologiste médical paraphe ou appose sa signature électronique ou manuscrite sur tous les résultats qu'il valide¹⁶.

Annexe 1

Ressources en santé et sécurité

Complément d'information

Santé Canada / Agence de santé publique du Canada	Bureau de la sécurité des laboratoires http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/index-fra.php
	<i>Norme canadienne sur la biosécurité</i> et le <i>Guide canadien sur la biosécurité</i> http://canadianbiosafetystandards.collaboration.gc.ca/index-fra.php
	Pratiques de base et précautions additionnelles visant à prévenir la transmission des infections dans les milieux de soins http://www.phac-aspc.gc.ca/nois-sinp/guide/summary-sommaire/tihs-tims-fra.php
	Pratiques en matière d'hygiène des mains dans les milieux de soins http://www.phac-aspc.gc.ca/nois-sinp/guide/summary-sommaire/hh-hm-fra.php
	Un protocole intégré pour la prise en charge des travailleurs de la santé exposés à des pathogènes transmissibles par le sang http://publications.gc.ca/collections/collection_2016/aspc-phac/HP3-1-23-S2-fra.pdf
Institut national de santé publique	Santé au travail https://www.inspq.qc.ca/expertises/sante-au-travail
Gouvernement du Québec	Les déchets biomédicaux. Le règlement en bref. http://www.mddelcc.gouv.qc.ca/matieres/biomedicaux/
	Prévention et contrôle des maladies transmissibles http://www.msss.gouv.qc.ca/sujets/santepub/preventioncontrole/maladies-transmissibles.php
ASSTSAS	L'Association paritaire pour la santé et la sécurité du travail du secteur affaires sociales (ASSTSAS) http://www.asstsas.qc.ca/
CNESST	Que faire lors d'une exposition au sang ? http://www.cnesst.gouv.qc.ca/publications/100/Pages/dc_100_498.aspx
	Service du répertoire toxicologique. http://www.reptox.csst.qc.ca/
SCSLM	La sécurité au laboratoire. Directives de la SCSLM www.scslm.org
CDC, Office of Health and Safety (OHS)	Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories (BMBL) https://www.cdc.gov/biosafety/publications/bmbl5/
American Biological Safety Association	http://www.absa.org
Organisation mondiale de la Santé (OMS/WHO)	Manuel de sécurité biologique en laboratoire. http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/LabBiosMan3rdFrenchweb.pdf?ua=1
Minnesota Department of Health	Infection control Resources http://www.health.state.mn.us/divs/idepc/dtopics/icar/res/icf.html

Annexe 2

Ressources en microbiologie

Complément d'information

Association des médecins microbiologistes et infectiologues du Québec (AMMIQ)	http://www.ammiq.org/public/index.cfm
Laboratoire de santé publique du Québec - Institut national de santé publique du Québec	http://www.inspq.qc.ca/lspq/
Santé Canada	http://www.hc-sc.gc.ca Loi sur les agents pathogènes et toxines : http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/regul/index-fra.php
American Society for Microbiology	http://www.asm.org
The Microbiology Network	http://microbiol.org
Organisation mondiale de la santé Guidelines on Standard Operating Procedures for Microbiology Quality Assurance	http://apps.searo.who.int/PDS_DOCS/B0217.pdf?ua=1
Microbiology Department, Mount Sinai Hospital, Toronto, ON. Specimen collection	http://www.mountsinai.on.ca/care/microbiology/clinical-laboratory/specimen-collection
Infection control	http://www.mountsinai.on.ca/care/microbiology/infection-control
Kingston General Hospital Infection Control Service	http://www.path.queensu.ca
Clinical and Laboratory Standards Institute	http://www.clsi.org

Annexe 3 (page 1 de 3)

Calendrier d'entretien préventif et de contrôle de la qualité de certains équipements

Complément d'information

Attention : Pour certains équipements, la fréquence de contrôle de la qualité et de l'entretien préventif peut être modifiée en fonction de l'utilisation.

Équipement	Fréquence	Activités
Autoclave	À chaque cycle d'utilisation	<ul style="list-style-type: none"> - Enregistrer la température et la durée du cycle - Utiliser un indicateur de stérilisation - Vérifier l'état du drain et le nettoyer au besoin
	Hebdomadaire	<ul style="list-style-type: none"> - Utiliser un indicateur biologique pour contrôler l'efficacité de la stérilisation (<i>Geobacillus stearothermophilus</i>) - Vérifier la valve de sécurité
	Mensuelle	<ul style="list-style-type: none"> - Vérifier les joints d'étanchéité
Balance	À chaque utilisation	<ul style="list-style-type: none"> - Vérifier la propreté et le niveau
	Journalière	<ul style="list-style-type: none"> - Vérifier avec un poids de référence
	Mensuelle	<ul style="list-style-type: none"> - Calibrer avec les poids étalonnés
Chambre anaérobie	Journalière	<ul style="list-style-type: none"> - Utiliser un indicateur chimique d'anaérobiose et/ou une souche fastidieuse (exigeante), (p. ex. : <i>Clostridium novyi</i>) - Enregistrer la température de l'incubateur - Vérifier la pression du gaz dans le ou les cylindres
	Hebdomadaire	<ul style="list-style-type: none"> - Changer le catalyseur (préalablement régénéré) et le dessiccateur (peut être à chaque jour selon la charge de travail)
	Mensuelle	<ul style="list-style-type: none"> - Nettoyer l'intérieur
	Annuelle	<ul style="list-style-type: none"> - Effectuer l'entretien des équipements de la chambre anaérobie selon les instructions du fabricant
Enceinte de sécurité biologique	Journalière ou à chaque utilisation	<ul style="list-style-type: none"> - Enregistrer la pression du filtre HEPA (High Efficiency Particulate Air) ⁷ - Vérifier visuellement le flux d'air à l'aide d'une bandelette
	Annuelle ou plus, au besoin	<ul style="list-style-type: none"> - Inspection et certification

Annexe 3 (page 2 de 3)

Équipement	Fréquence	Activités
Équipements automatisés identification, sensibilité aux antimicrobiens, etc.	Journalière, et selon les recommandations du fabricant	<ul style="list-style-type: none"> - Effectuer tous les contrôles de la qualité recommandés par le fabricant ou par des organismes de référence reconnus - Effectuer l'entretien préventif recommandé par le fabricant en respectant le calendrier des activités
Équipements à température contrôlée bain-marie bloc chauffant congélateur four incubateur réfrigérateur etc.	Journalière ou à chaque utilisation	<ul style="list-style-type: none"> - Enregistrer la température au minimum 1 fois par jour (pour les limites de tolérance, voir le point 13.5.1) - Enregistrer le niveau de CO₂ (lorsqu'applicable) - Vérifier le niveau et la propreté de l'eau (lorsqu'applicable) - Vérifier que le ventilateur fonctionne (lorsqu'applicable)
	Hebdomadaire	<ul style="list-style-type: none"> - Changer l'eau du bassin de l'humidificateur (lorsqu'applicable) - Vérifier le niveau de CO₂ avec l'appareil de Fyrite (lorsqu'applicable)
	Mensuelle	<ul style="list-style-type: none"> - Vider et nettoyer les équipements contenant de l'eau
	Semestrielle	<ul style="list-style-type: none"> - Vérifier et enregistrer le fonctionnement du système d'alarme sonore ainsi que la source auxiliaire d'énergie de l'appareil ou du système d'alarme (lorsqu'applicable)
	Annuelle ou plus au besoin	<ul style="list-style-type: none"> - Vérifier les thermomètres à l'aide d'un thermomètre de référence - Vérifier l'étanchéité du manomètre à CO₂ lors de chaque changement de bonbonne à CO₂ - Vérifier que le ventilateur fonctionne lorsque la porte est fermée (lorsqu'applicable) - Nettoyer l'intérieur et l'extérieur des équipements - Effectuer tout autre entretien préventif suivant les recommandations du fabricant
Équipements volumétriques micro-pipettes anses calibrées distributeurs etc.	Journalière	<ul style="list-style-type: none"> - Vérifier visuellement l'état de l'équipement à chaque usage
	Mensuelle	<ul style="list-style-type: none"> - Vérifier l'exactitude des anses réutilisables
	Après une activité d'entretien ou au moins annuellement	<ul style="list-style-type: none"> - Calibrer (vérifier l'exactitude et la précision)

Annexe 3 (page 3 de 3)

Équipement	Fréquence	Activités
Jarre et sac d'incubation en atmosphère contrôlée	Journalière ou à chaque utilisation	<ul style="list-style-type: none"> - Vérifier si les contenants et les couvercles sont intacts et dépourvus de craquelures - Vérifier l'indicateur d'atmosphère - S'assurer de la propreté de la jarre - Régénérer les catalyseurs - Utiliser une souche de contrôle et/ou un indicateur chimique approprié au milieu pour vérifier l'activité du système
	Mensuelle ou au besoin	- Vérifier l'état des pastilles catalytiques, peser les paniers contenant les pastilles et changer celles-ci selon les recommandations du fabricant
	Annuelle ou au besoin	- Vérifier et au besoin lubrifier les anneaux d'étanchéité du couvercle
Lecteur optique de plaque immuno-enzymatique	Semi-annuellement	<ul style="list-style-type: none"> - Vérifier la linéarité, l'exactitude et la précision du lecteur de plaque à l'aide de contrôles de la qualité - Vérifier la diode et l'alignement mécanique du lecteur
	Au besoin	<ul style="list-style-type: none"> - Vérifier le système de lavage de microplaque selon les recommandations du fabricant - Effectuer tout autre entretien préventif selon les recommandations du fabricant
Microscope	Journalière ou à chaque usage	<ul style="list-style-type: none"> - Effectuer l'ajustement de l'éclairage de Köhler⁶ - Essuyer l'huile à immersion après chaque usage - Comptabiliser les heures d'utilisation de la lampe à fluorescence - Nettoyer les objectifs - Couvrir pour protéger de la poussière
	Mensuelle	<ul style="list-style-type: none"> - Nettoyer toutes les lentilles avec un nettoyeur pour lentilles - Nettoyer le microscope et enlever la poussière et la saleté
	Annuelle	<ul style="list-style-type: none"> - Faire effectuer une vérification du microscope par un spécialiste - Calibrer le micromètre oculaire une fois par an ou, au besoin, lorsqu'un élément est remplacé
pH mètre	À chaque série de tests	<ul style="list-style-type: none"> - Calibrer avec des solutions étalonnées - Enregistrer les lectures du calibrage
	Journalière	- Vérifier le niveau de la solution dans l'électrode
	Au besoin	- Effectuer tout autre entretien préventif selon les recommandations du fabricant

Sources :

MASSICOTTE Luc, M.Sc., Laboratoire de Santé publique du Québec. *Contrôle de la qualité appliqué en microbiologie*, novembre 2003⁷.
 AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY. ISENBERG Henry D. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Washington DC, 1992³².
 MURRAY Patrick R. & ALL. *Manual of CLINICAL MICROBIOLOGY*. ASM Press, American Society for Microbiology, Washington DC, 8th Edition, 2003⁵⁰.

Annexe 4 (page 1 de 3)

Contrôle de la qualité des réactifs, des colorants, des antisérums, des antimicrobiens et des troussees commerciales

Complément d'information

Table 14.2-5 Performance standards for stains

Stain	Control organism ^a	ATCC ^b no.	Expected results	Frequency of testing
Acid-fast				
Fluorochrome	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>	25177	Yellow-green fluorescing bacilli	Each lot and each day of use
Modified (<i>Nocardia</i>)	<i>Escherichia coli</i>	25922	No fluorescing bacilli	Each lot and each day of use
	<i>Nocardia asteroides</i>	19247	Pink-red bacilli	
	<i>Streptomyces</i> sp.		Blue bacilli	
Ziehl-Neelsen	<i>M. tuberculosis</i>	25177	Pink-red bacilli	Each lot and each day of use
	<i>E. coli</i>	25922	Blue bacilli	
Acridine orange	<i>E. coli</i>	25922	Fluorescent bacilli	Each lot and each day of use
	<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Fluorescent cocci	
Calcofluor white	<i>Candida albicans</i>	60193	Fluorescent yeast cells	Each batch, lot number, and shipment when prepared or opened
	<i>E. coli</i>	25922	No fluorescence	
Flagellum	<i>Proteus mirabilis</i>	12453	Petritrichous flagella	Each lot and each use
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13883	No flagella	
Giemsa	Thin-film blood smear		Distinct staining of WBC's and RBC's	Each lot and each week of use
Gram	<i>E. coli</i>	25922	Gram-negative bacilli	Each lot and each week of use
	<i>S. aureus</i>	25923	Gram-positive cocci	
Iodine solution	Formalin-treated specimen with cysts		Visible cyst nuclei	Each lot
Methenamine-silver nitrate	Tissue containing fungus or <i>Pneumocystis jiroveci</i>		Gray-black fungus or <i>P. jiroveci</i> cysts	Each use
Periodic acid-Schiff	Specimen containing fungus		Magenta fungus; light-pink background	Each use
Spore	<i>Bacillus</i> sp.		Spores stain one color and bacillus stains with counterstain	Each lot and each week of use
Trichrome	Smear of polyvinyl alcohol-fixed specimen with protozoan		Nuclear components clearly stained	Each lot and each week of use

^a Organisms recommended for QC testing of stains (2, 7-12, 15, 17). Although American Type Culture Collection strains are listed, any organism that yields identical results is acceptable.

^b ATCC, American Type Culture Collection.

(Voir la section 15.1 de ce document pour les souches de contrôle acceptables.)

Source: American Society for Microbiology. Isenberg Henry D. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Second edition, Washington DC, 2004. Table 14.2-5

Ce tableau est reproduit avec la permission de l'American Society for Microbiology.

Annexe 4 (page 2 de 3)

Table 14.2-6 Performance standards for reagents used for bacteria

Organism and reagent	Control organism ^a	ATCC ^b no.	Expected results	Frequency of testing
Aerobic bacteria				
Aminolevulinic acid, porphyrin test	<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	7901	Positive; red fluorescence	Each batch, lot number, and shipment
	<i>Haemophilus influenzae</i>	43065	Negative; no fluorescence	
Bacitracin disk	<i>Streptococcus pyogenes</i>	19615	Zone of inhibition	Each batch, lot number, and shipment
	<i>Streptococcus agalactiae</i>	12386	No zone of inhibition	
β-Lactamase disks	<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	Positive; red	Each lot and each day of use (other than cefinase) Each batch, lot number and shipment (cefinase)
	<i>H. influenzae</i>	10211	Negative; no color change	
Campy-Pak envelope	<i>Campylobacter jejuni</i>	33291	Growth after 48 h	Each batch, lot number, and shipment
Catalase (3% H ₂ O ₂)	<i>S. aureus</i>	25923	Positive (bubbles)	Each batch, lot number, and shipment
	<i>S. pyogenes</i>	19615	Negative (no bubbles)	
Coagulase	<i>S. aureus</i>	25923	Positive (any clotting)	Each batch, lot number, and shipment
	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	12228	Negative (no clotting)	
Deoxycholate (10%) (bile solubility test)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6305	Positive (lysis)	Each batch, lot number, and shipment
	<i>Enterococcus faecalis</i>	29212	Negative (no lysis)	
Ferric chloride (10%)	<i>Proteus vulgaris</i>	33420	Positive (green)	Each batch, lot number, and shipment
	<i>Escherichia coli</i>	25922	Negative (no color change)	
Indole (spot, Kovacs, or Ehrlich)	<i>E. coli</i>	25922	Positive (color depends on reagent)	Each batch, lot number, and shipment
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	27853	Negative (no color change)	
Lead acetate strips (H ₂ S)	<i>P. vulgaris</i>	33420	Positive (brown)	Each batch, lot number, and shipment
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13883	Negative (no color change)	
Methyl red	<i>E. coli</i>	25922	Positive (red)	Each batch, lot number, and shipment
	<i>K. pneumoniae</i>	13883	Negative (no color change)	
Ninhydrin	<i>S. agalactiae</i>	12386	Positive (purple)	Each batch, lot number, and shipment
	<i>S. pyogenes</i>	19615	Negative (no color change)	
Nitrate reagents	<i>E. coli</i>	25922	Positive (red)	Each batch, lot number, and shipment
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	19606	Negative (no color change)	
ONPG ^c	<i>E. coli</i>	25922	Positive (yellow)	Each batch, lot number, and shipment
	<i>Proteus mirabilis</i>	29245	Negative (no color change)	
Optochin disk (10 mm)	<i>S. pneumoniae</i>	6305	Zone of inhibition ≥ 16 mm	Each batch, lot number, and shipment
	<i>E. faecalis</i>	29212	No zone of inhibition	

Annexe 4 (page 3 de 3)

Table 14.2-6 Performance standards for reagents used for bacteria (continued)

Organism and reagent	Control organism ^a	ATCC ^b no.	Expected results	Frequency of testing
Oxidase	<i>P. aeruginosa</i>	27853	Positive (red to blue-black)	Each batch, lot number, and shipment
	<i>E. coli</i>	25922	Negative (no color change)	
Voges-Proskauer	<i>Enterobacter cloacae</i>	13047	Positive (red)	Each batch, lot number, and shipment
	<i>E. coli</i>	25922	Negative (no color change)	
X, V, and XV disks or strips	<i>H. influenzae</i>	10211	Growth around XV and only between X and V when closely spaced	Each batch, lot number, and shipment
Anaerobic bacteria disk tests				
Bile	<i>Bacteroides vulgatus</i>	8482	No zone of inhibition	Each batch, lot number, and shipment
	<i>Fusobacterium nucleatum</i>	25586	Zone of inhibition	
Colistin (10 µg)	<i>B. vulgatus</i>	8482	Resistant (<10-mm-diameter zone)	Each batch, lot number, and shipment
	<i>F. nucleatum</i>	25586	Susceptible (≥10-mm-diameter zone)	
Kanamycin (1000 µg)	<i>B. vulgatus</i>	8482	Resistant (<10-mm-diameter zone)	Each batch, lot number, and shipment
	<i>F. nucleatum</i>	25586	Susceptible (≥10-mm-diameter zone)	
Sodium polyanetholsulfonate	<i>Peptostreptococcus anaerobius</i>	27337	Zone of inhibition	Each batch, lot number and shipment
Vancomycin (5 µg)	<i>B. vulgatus</i>	8482	Resistant (<10-mm-diameter zone)	Each batch, lot number and shipment
	<i>Clostridium perfringens</i>	13124	Susceptible (≥10-mm-diameter zone)	
Ferric ammonium citrate (1%)	<i>Bacteroides fragilis</i>	25285	Positive (brown)	Each batch, lot number and shipment
	<i>Porphyromonas asaccharolytica</i>	25260	Negative (no color change)	
GasPak envelope	<i>Clostridium novyi</i>	19402	Growth in 48 h	
Indole (Ehrlich)	<i>P. asaccharolytica</i>	25260	Positive (red)	Each batch, lot number and shipment
	<i>B. fragilis</i>	25285	Negative (no color change)	
Nagler's test	<i>C. perfringens</i> (+antitoxin)	13124	Positive (precipitin formed upon addition of antitoxin)	Each batch, lot number and shipment
	<i>C. perfringens</i> (- antitoxin)	13124	Negative (no precipitin formed upon addition of antitoxin)	
Nitrate	<i>C. perfringens</i>	13124	Positive (red)	Each batch, lot number and shipment
	<i>B. fragilis</i>	25285	Negative (no color)	

^a Organisms recommended for QC testing of stains (2, 7-12, 15, 17). Although American Type Culture Collection strains are listed, any organism that yields identical results is acceptable. (Voir la section 15.1)

^b ATCC, American Type Culture Collection.

^c ONPG, *o*-nitrophenyl-β-D-galactopyranoside

Source: American Society for Microbiology. Isenberg Henry D. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Second edition, Washington DC, 2004. Table 14.2-6. Ce tableau est reproduit avec la permission de l'American Society for Microbiology.

Annexe 5

Préparation de l'inoculum bactérien pour antibiogramme par la méthode de diffusion en gélose

Exemple de procédure

Méthode de croissance^{29,33}:

1. À l'aide d'un fil bouclé, toucher, au minimum, le dessus de 3 à 5 colonies bien isolées de la bactérie étudiée et ensemercer dans un tube contenant de 4 à 5 ml d'un bouillon nutritif approprié, tel que le bouillon tryptone-soja (TSB).
2. Le bouillon de culture est incubé à 35°C jusqu'à l'apparition d'une turbidité égale ou supérieure à la turbidité du tube étalon 0,5 de McFarland (en général, délai de 2 à 6 heures).
3. Ajuster la turbidité du bouillon de culture en phase de croissance avec de la saline stérile ou du bouillon stérile pour obtenir une turbidité optiquement comparable à celle du tube étalon 0,5 de McFarland (soit une suspension contenant approximativement $1 \text{ à } 2 \times 10^8$ UFC/ml pour le *E. Coli* ATCC 25922. Le tube étalon est agité à l'aide d'un agitateur électrique avant l'ajustement).
4. Pour effectuer cet ajustement de turbidité, on peut utiliser un appareil photométrique ou la comparaison visuelle. La méthode visuelle consiste à comparer visuellement le bouillon de culture en phase de croissance et le tube étalon en les plaçant devant une série de lignes noires sur un fond blanc en présence d'une source de lumière adéquate.
5. L'inoculum bactérien devrait être ensemercé au cours des 15 minutes qui suivent l'ajustement de sa turbidité.

Méthode de suspension directe^{29,33}:

La méthode de suspension directe est une méthode de remplacement pratique pour préparer l'inoculum de certaines bactéries fastidieuses (exigeantes) ou non (p. ex. : *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, streptocoques, etc.), ou pour rechercher les staphylocoques dorés résistants à la méthicilline ou à l'oxacilline.

1. Émulsifier directement les colonies de la bactérie étudiée bien isolées (après 18 à 24 heures d'incubation sur une gélose non sélective, telle la gélose sang) dans une solution saline stérile ou un bouillon stérile. Ajuster immédiatement la densité de l'inoculum au tube étalon 0,5 McFarland tel que décrit aux points 3 et 4 de la méthode de croissance présentée ci-dessus.

Annexe 6 (page 1 de 2)

Épreuve de sensibilité aux antibiotiques par la méthode
« Kirby-Bauer »

Complément d'information : Facteurs importants à considérer

Variables	Commentaires
Milieu	<ul style="list-style-type: none"> • Milieu recommandé par le CLSI : Mueller-Hinton avec faible teneur en thymidine ou thymine et un contenu en cations connu. • Milieu préparé sur place ou acheté prêt à l'emploi : <ul style="list-style-type: none"> ○ Contrôler la performance avant d'utiliser le milieu en routine; ○ L'épaisseur de la gélose doit être de 3 à 4 mm; ○ Il y a une possibilité de faux sensibles si < 3 mm; ○ Il y a une possibilité de faux résistants si > 4 mm; ○ Le pH doit être entre 7,2 et 7,4 (p. ex. : la tétracycline donne des zones plus petites si le pH est trop élevé et vice versa); ○ Ne pas utiliser de milieu périmé.
Disques d'antibiotiques	<ul style="list-style-type: none"> • Conservation : <ol style="list-style-type: none"> 1- Congélateur avec givre à $\leq -14^{\circ}\text{C}$, avec dessiccateur; 2- Réfrigérateur à $2-8^{\circ}\text{C}$, avec dessiccateur ; 3- Antibiotiques thermolabiles (≤ 1 sem.) : réfrigérateur à $2-8^{\circ}\text{C}$, avec dessiccateur. • Laisser réchauffer les disques à la température de la pièce (environ 1 à 2 heures) avant de les utiliser; • Répartir les disques uniformément sur la gélose; <ul style="list-style-type: none"> ○ Généralement ≤ 12 disques/Pétri de 150 mm ou ≤ 5 disques/Pétri de 100 mm; ○ Sauf exception (p. ex., pneumocoque ≤ 9 disques/Pétri de 150 mm ou ≤ 4 disques/Pétri de 100 mm. • Dès lors que l'emballage a été ouvert, les disques doivent toujours être réfrigérés s'ils ne sont pas utilisés. Éviter de les laisser plusieurs heures à la température de la pièce; • Tenir les disques à l'abri de l'humidité. Éviter la condensation en tout temps; • Ne pas utiliser de disques périmés.
Inoculum	<ul style="list-style-type: none"> • L'inoculum doit être pur et à la bonne concentration; <ul style="list-style-type: none"> ○ Toujours utiliser une culture jeune pour le préparer. • Utiliser un standard McFarland 0,5 (sulfate de baryum ou particules de latex); <ul style="list-style-type: none"> ○ La densité du standard McFarland avec sulfate de baryum doit être vérifiée chaque mois en raison de la formation possible de précipités. • La méthode la plus reproductible pour la préparation de l'inoculum demeure l'utilisation d'un spectrophotomètre; • Après l'ensemencement, laissez absorber l'excès d'humidité à la surface de la gélose de 3 à 5 minutes, sans excéder 15 minutes, avant d'appliquer les disques²⁹; • Un inoculum trop faible peut donner des colonies isolées.

Annexe 6 (page 2 de 2)

Épreuve de sensibilité aux antibiotiques par la méthode « Kirby-Bauer »

Complément d'information : Facteurs importants à considérer

Variables	Commentaires
Conditions d'incubation	<ul style="list-style-type: none"> • L'incubation se fait généralement en aérobiose, avec humidité, sauf si indication contraire; <ul style="list-style-type: none"> ○ L'incubation en CO₂ diminue le pH et peut modifier l'activité de certains antibiotiques. • Il est très important de respecter la durée d'incubation : en général, de 16 à 18 heures <ul style="list-style-type: none"> ○ sauf dans le cas de <i>Staphylococcus</i> sp. et <i>Enterococcus</i> sp. : 24 heures pour certains antibiotiques et pour d'autres exceptions; ○ une incubation trop longue peut fausser les résultats. • S'assurer que la température de l'incubateur est contrôlée et uniforme.
Lecture	<ul style="list-style-type: none"> • Déposer la boîte sur un fond noir et utiliser une lumière réfléchie; • S'assurer que tout le personnel respecte les mêmes critères; • Faire lire le même test par plusieurs personnes : variation maximale de ± 2 mm d'un lecteur à un autre (validation du résultat et mesure de contrôle de la qualité); • Calibrer les instruments de mesure utilisés.
Critères d'interprétation	<ul style="list-style-type: none"> • Suivre les recommandations du CLSI.
Contrôle de la qualité	<ul style="list-style-type: none"> • Suivre les recommandations du CLSI.
Disque d'oxacilline	<ul style="list-style-type: none"> • Pour le <i>Staphylococcus aureus</i>, la température d'incubation ne doit pas dépasser 35°C (idéalement entre 33 et 35°C) et la lecture du disque d'oxacilline est faite après une période complète d'incubation de 24 heures.

Source : Institut national de santé publique. LSPQ. *Contrôle externe de la qualité. Bactériologie.* Comité d'assurance qualité en microbiologie. Janvier 2004.

BIBLIOGRAPHIE

1. ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO15189 :2012(F) *Laboratoires de biologie médicale – Exigences concernant la qualité et la compétence*. Troisième édition (version corrigée 2014-08-15), Genève, ISO, 2012, 52 p.
2. Sans objet.
3. Sans objet.
4. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Quality Management System: A Model for Laboratory Services*; Approved Guideline - *Fourth Edition*, CLSI document QMS01-A4, Wayne, PA, CLSI, 2011, 143 p.
5. ORGANISATION INTERNATIONALE DE NORMALISATION. ISO9000 :2015 *Systèmes de management de la qualité – Principes essentiels et vocabulaire*. Quatrième édition (version corrigée 15-09-2015), Genève, ISO, 2015, 53 p.
6. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *La qualité dans les laboratoires de biologie médicale : Règles de pratique*, deuxième édition, Montréal, 2009, 98 p.
7. MASSICOTTE Luc, Laboratoire de Santé publique du Québec. *Contrôle de la qualité appliqué en microbiologie*, novembre 2005.
8. AGENCE DE LA SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA. *Pratiques de base et précautions additionnelles visant à prévenir la transmission des infections dans les milieux de soins*; Mars 2014, 226 p.
9. SHEMATEK, Gene, et WOOD, Wayne. *La sécurité au laboratoire. Directives de la SCSLM*; septième édition, Hamilton, Société canadienne de science de laboratoire médical, 2012, 129 p.
10. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Clinical Laboratory Safety, Approved Guideline; Third Edition*, CLSI document GP17-A3, Wayne, PA, CLSI, 2012, 89 p.
11. *Règlement sur les déchets biomédicaux*, (RLRQ, chapitre Q.2, r.12).
12. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Prélèvement de sang par ponction veineuse pour fins de diagnostic : Règles de pratique*, sixième édition, Montréal, 2006, 45 p.
13. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Prélèvement de sang par ponction capillaire aux fins d'analyse : Règles de pratique*, troisième édition, Montréal, 2011, 39 p.
14. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Transport et conservation des échantillons dans le domaine de la biologie médicale : Règles de pratique*, quatrième édition, Montréal, 2010, 71 p.
15. Sans objet
16. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Normes de pratique du technologiste médical*, quatrième édition, Montréal, 2015, 18 p.
17. *Règlement sur le transport des marchandises dangereuses*, Ottawa, Ministère de la Justice du Canada, dernière modification le 1^{er} juin 2016, DORS/2016-95.
18. SOCIÉTÉ CANADIENNE DE SCIENCE DE LABORATOIRE MÉDICAL. *Normes de pratique pour les technologistes de laboratoire médical*, Hamilton. Révisées en juin 2014.
19. ONTARIO MEDICAL ASSOCIATION. Quality Management Program – Laboratory Services, Ontario Laboratory Accreditation (OLA) Division. *Ontario Laboratory Accreditation Program Requirements and « What to look for » Guidance Information*, May 2002.
20. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Quality Management System: Development and Management of Laboratory Documents; Approved Guideline – Sixth Edition*, CLSI document QMS02-A6, Wayne, PA, CLSI, 2013, 89 p.
21. COLLEGE OF AMERICAN PATHOLOGISTS (CAP). *Laboratory Accreditation Program, Laboratory general checklist*, 2001 and revisions 2004.
22. Sans objet.
23. Sans objet.

24. MILLER Michael J. *A Guide to Specimen Management in Clinical Microbiology*; American Society for Microbiology, Second Edition, ASM Press, Washington D.C., 1999.
25. MASSICOTTE Luc, Laboratoire de santé publique du Québec-INSPQ. *Les milieux de culture, ces négligés!* AMMIQale, vol. 11, numéro 1, mars 2003.
26. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Quality Control of Microbiological Transport Systems*. Approved Standard, Pennsylvania, NCCLS, M40-A, 2003.
27. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Quality Control for Commercially Prepared Microbiological Culture Media*. Approved Standard, Pennsylvania, NCCLS, Third Edition, M22-A3, 2004.
28. LORIAN Victor, M.D. *Antibiotics in Laboratory Medicine*. Williams & Wilkins, Third Edition, 1991.
29. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests*, Approved Standard, Pennsylvania, NCCLS, Ninth Edition, M2-A9, 2006.
30. INSTITUT NATIONAL DE SANTÉ PUBLIQUE DU QUÉBEC. *Qualité de l'eau de laboratoire*. Octobre 2002.
http://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/143_QualiteEauLaboratoire.pdf
31. AGENCE DE LA SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA. *Norme canadienne sur la biosécurité*, deuxième édition, Ottawa, Agence de la santé publique du Canada, 2016, 264 p.
32. AMERICAN SOCIETY FOR MICROBIOLOGY. ISENBERG Henry D. *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. Washington DC, 2004.
33. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically*, Approved Standard, Pennsylvania, NCCLS, Sixth Edition, M7-A7, 2006.
34. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Methods for Antimicrobial Susceptibility Testing of Anaerobic Bacteria*, Approved Standard, Pennsylvania, NCCLS, Fifth Edition, M11-A5, 2001.
35. ROBERT-DERNUET Sabine. *Antibiotiques et antibiogrammes*. Décarie Éditeur Inc. Montréal, 1995, 322 pages.
36. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Provider-Performed Microscopy Testing*, Approved Guideline, Pennsylvania, NCCLS, HS2-A, 2003.
37. DELORME J., GAUDREAU C., HARVEY P., LAUZON D, et SANCHEZ M. *Atelier de travail des voies respiratoires inférieures, guide de pratique*. Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec, Montréal, juin 1997.
38. BERNATCHEZ H., BOUCHARD J., HIVON P., LAFLAMME P-J., RIVEST N., et SAINT-JEAN L. *Guide de pratique des sécrétions vaginales*. Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec, Montréal, février 1996.
39. CLAVEAU S., LAFERRIÈRE C., MORISSETTE I., PICHETTE G., et POIRIER A. *Guide de pratique en microbiologie, la culture d'urine*. Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec, Montréal.
40. KNOWLES K., LEBEL P., MAILLOUX-CÉRAT L., RUBIN E., et WEISS K. *Les cultures de gorge, guide de pratique*. Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec, Montréal, juin 1997.
41. KNOWLES K., LEMIEUX C., RIVEST N., et WEISS K. *Protocole de travail sur les pus superficiels. Guide de pratique*. Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec, Montréal, juin 1997.
42. CÔTÉ L, DELORME J., GAUDREAU C., LAUZON D., et GOYETTE M. *Guide de pratique de la culture des selles*. Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec, Montréal, février 1996.
43. ENVIRONNEMENT QUÉBEC. *Les déchets biomédicaux. Le règlement en bref*.
<http://www.mddelcc.gouv.qc.ca/matieres/biomedicaux/>

44. ASSOCIATION CANADIENNE DE NORMALISATION. CAN/CSA-Z15190 *Medical laboratories – Requirements for safety (Laboratoires de médecine – Exigences pour la sécurité)*, Mississauga, Association canadienne de normalisation, 2005, 39 p.
45. AGENCE DE LA SANTÉ PUBLIQUE DU CANADA. *Guide canadien sur la biosécurité*, deuxième édition, Ottawa, Agence de la santé publique du Canada, 2016, 264 p.
46. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Training and Competence Assessment; Approved Guideline – Third Edition*, CLSI document QMS03-A3, Wayne, PA, CLSI, 2009, 69 p.
47. SETTECASI E., CAYOUEITE M., LAVERGNE M., et BOISVERT J.F. Centre hospitalier régional de Lanaudière, Département de biologie médicale. *Le préanalytique. Répertoire des analyses et des services*. CHRDL, 2004.
48. BÉLIVEAU C., BOURGALT A-M., COUILLARD M., et POIRIER A. *Diagnostic des infections causées par les virus influenza A et B. Guide de pratique*. Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec, Montréal, 1999.
49. DELORME J., ROBERT A. *Mycologie médicale*. Centre collégial de développement de matériel didactique. Décarie Éditeur Inc., Ville Mont-Royal, 1997.
50. MURRAY Patrick R. et autres. *Manual of CLINICAL MICROBIOLOGY*. ASM Press, American Society for Microbiology, Washington DC, 8th Edition, 2003.
51. LALIBERTÉ, Alain. *Techniques instrumentales en biologie médicale, tome 1*, Teknix, CÉGEP de Saint-Hyacinthe, 1987, 205 p.
52. REGNAULT Jean-Pierre. *Microbiologie générale*. Collège Montmorency. Centre collégial de développement de matériel didactique. Décarie Éditeur Inc., Montréal (Québec), 1990, 859 pages.
53. SOCIÉTÉ CANADIENNE DE MÉDECINE TRANSFUSIONNELLE. *Normes de la médecine transfusionnelle*. 6^e Édition, 1999.
54. LOUNGNARATH V., BOUCHARD J., POIRIER A., POIRIER L., VINCELETTE J., et WARD B. *Compte rendu des travaux du Comité de parasitologie de l'AMMIQ*. Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec, Montréal, mai 2002.
55. COLLEGE OF MEDICAL LABORATORY TECHNOLOGISTS OF ONTARIO. *Workload Guidelines for Parasitology Technologists*.
56. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing*, Fourteenth Informational Supplement, Pennsylvania, NCCLS, M100-S16, 2006.
57. ONTARIO MEDICAL ASSOCIATION. Laboratory Proficiency Testing Program. *Quality Management of Diagnostic Microbiology*. Richardson Harold, BSc., MD, FRCPC. Editor Chedoke-McMaster Hospital. Hamilton, Ontario, Canada. 1992.
58. JCAHO. *Position statement on Quality Control of Bacterial ID Systems*. Joint Commission on Accreditation of Healthcare Organizations, Laboratory services. May 16, 2003.
59. Sans objet.
60. Sans objet.
61. CANADIAN COALITION FOR QUALITY IN LABORATORY MEDICINE (CCQLM). Microbiology Working Group. *Guideline for Quantitative Interpretation of Gram Stains*. November 2004.
http://www.cpsa.ab.ca/facilitiesaccreditation/attachments_alqep/Gram%20Stain%200Guideline.pdf
62. CANADIAN COALITION FOR QUALITY IN LABORATORY MEDICINE (CCQLM). Microbiology Working Group. *Guideline for Laboratory Processing and Interpretation of Vaginal Specimens in the Diagnosis of Bacterial Vaginosis*. November 2004.
63. INSTITUTE FOR QUALITY IN LABORATORY MEDICINE (IQLM). *Establishing Analytical Turnaround Time for Urine Cultures: A Project of the Canadian Coalition for Quality in Laboratory Medicine Working Group*. 2005.
http://cdc.confex.com/cdc/qlm2005/techprogram/paper_8612.htm

64. INSTITUT NATIONAL DE SANTÉ PUBLIQUE DU QUÉBEC. *Méthodes de laboratoire en parasitologie intestinale*, cahier de stage rédigé par Louise Trudel, mai 2005.
65. NATIONAL COMMITTEE FOR CLINICAL LABORATORY STANDARDS. *Procedures for the Recovery and Identification of Parasites from the Intestinal Tract*, Approved Guideline, Pennsylvania, NCCLS, M28-A, 1997.
66. BÉLIVEAU C., CÉRAT G., GOYETTE M., MAILLOUX-CÉRAT L., et VINCELETTE J. *Sérologie de l'hépatite. Guide de pratique*. Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec, Montréal, juin 1997.
67. ORDRE PROFESSIONNEL DES TECHNOLOGISTES MÉDICAUX DU QUÉBEC. *Hématologie : Règles normatives*, première édition, Montréal, 2001, 68 p.
68. CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE. *Protocols for Evaluating Dehydrated Mueller-Hinton Agar*, Approved Guideline, Second Edition. CLSI document M6-A2, Pennsylvania, 2006.
69. ASSOCIATION DES HÔPITAUX DU QUÉBEC ET LABORATOIRE DE SANTÉ PUBLIQUE DU QUÉBEC. *Décontamination de déchets biomédicaux de laboratoire par la vapeur*, Montréal, Québec, 1993.
70. LAMOTHE F. *Le diagnostic et le traitement des infections invasives à Streptococcus pyogènes ou Streptocoque bêta-hémolytique du groupe A*. Association des médecins microbiologistes-infectiologues du Québec, Montréal, avril 1995.

