



**SOURCES D'INCERTITUDE**

Principe analytique : ID par séquençage de gènes conservés (les protocoles d'ID faisant référence à cette méthode)

Par/date : ..... /.....

	Éléments à maîtriser	Contribution critique			Moyen(s) de maîtrise si critique
		OUI	NON	N/A	
<b>Méthode</b>	Performances de la méthode	X			PON à l'interne pour les groupes de pathogènes concernés par le séquençage CLSI MM18A 2 <sup>ème</sup> éd
	Limites de détection		X		Avec les méthodes d'extraction, de PCR et de séquençage utilisées, une bactérie doit toujours contenir le gène conservé recherché. Par conséquent, un résultat négatif est toujours repris.
	Limites de quantification			X	
	Interférence/ réactions non spécifiques	X			Une interférence peut être détectée sur la qualité du chromatogramme qui est non interprétable. Dans le cas de souches contaminées ou mixtes, une purification de la culture est effectuée
	Agitation/ Rotation			X	
	Durée/conditions d'incubation			X	
	Contrôles internes et externes	X			CEC du LNM 1 fois par an CIC au LSPQ x fois / an Comparaison des résultats avec ceux du Canada via le LNM
	Dilution utilisée			X	
	Reconnaissance des colonies type	X			Corrélation entre le phénotype et le résultat du séquençage
	Lecture des résultats	X			Phénotype de la bactérie, aspect du chromatogramme, et analyse phylogénétique
	Interprétation des résultats	X			Vérification de l'identification attendue des souches contrôles et du spécimen négatif. Instructions dans la procédure PR-IDBM-001 (Contrôle qualité) Corrélation phénotypique, l'identification génotypique et critères du CLSI MM18A 2 <sup>ème</sup> éd.
	Enregistrement	X			Saisie des résultats dans le système informatique en vigueur, vérifié par la technicienne en IDBM, la technicienne en ID et le professionnel
	Interface			X	
<b>Matériel</b>	Maintenance équipements	X			Maintenance de routine et maintenance préventive par le manufacturier (extracteur, thermocycleurs, séquenceur)
	Calibration d'équipement	X			Pipettes par CQE
	Gestion des stocks	X			Le principe est d'avoir en tout temps 1-2 lots en réserve et un lot en cours d'utilisation. La même technicienne est dédiée aux commandes ce qui réduit les oublis ou des commandes redondantes. Respect des dates de péremption et élimination des réactifs périmés

	Surveillance des dérives	X		Enregistrées dans le RE-GQ-007 et analysées périodiquement pour détecter les problèmes récurrents
	Lots de réactifs	X		Rapporté sur les registres de travail et dans le SGIL en vigueur
	Reconstitution des réactifs	X		Vérification du certificat d'analyse du manufacturier. Qualification des réactifs lors de leur première utilisation. Puis approbation pour une utilisation subséquente en routine. En cas de problème, le réactif n'est pas mis en routine
	Qualité de l'eau	X		Eau DEPC pour les techniques de biologie moléculaire
	Contamination	X		Séquençage et identification du contrôle négatif. Reprise de tous les spécimens qui seraient identiques au contrôle négatif. Remplir la RE-GQ-007
	Équipement pour délivrer ou filtrer	X		Distributeur Eppendorf calibré selon les recommandations du manufacturier
	Équipement pour mesurer la température		X	
	Condition particulière (humidité, CO2...)		X	
<b>Matière (échantillon)</b>	Nature du spécimen	X		Souche en culture pure
	Site du prélèvement		X	
	Type de contenant		X	
	Intégrité du spécimen	X		Instructions sur la conservation des extraits d'ADN standardisé dans la procédure PR-IDBM-001
	Volume du spécimen	X		Standardisé dans les procédures d'extraction (préparé par les MC), de PCR et de séquençage
	Stabilité du spécimen	X		Instructions sur la conservation des extraits d'ADN standardisé dans la procédure
	Homogénéité		X	
	Nombre de colonies	X		Standardisé dans la procédure de soumission des souches pour extraction d'ADN
	Densité microbienne	X		Standardisé dans la procédure d'extraction d'ADN
	<b>Milieu</b>	Conditions de transport		X
Condition de conservation		X		Souches anaérobies sont gardées en atmosphère anaérobie
Exigences environnementales (T°C, humidité, ...)			X	
Conditions particulières			X	
<b>Main d'œuvre</b>	Type de compétences	X		Technicienne de laboratoire avec formation en microbiologie
	Formation à l'embauche	X		Registre de formation pour chaque protocole
	Maintien des compétences	X		Audit technique régulier CEC et CIC