

Accréditation en auto-immunité : formation, habilitation et maintien des compétences en immunofluorescence indirecte

Autoimmunity accreditation: training, accreditation and maintenance of skills in indirect immunofluorescence

Laurence Guis-Cabanne¹
Marie-Agnès Dragon-Durey²
David Goncalves³
Carole Emile¹
Georges Chyderiotis⁴
Lucile Musset⁵
Nicole Fabien³

¹ Immunologie, Laboratoire Eurofins Biomnis, Ivry-sur-Seine, France

² Laboratoire d'immunologie, Hôpital européen Georges Pompidou, AP-HP, Paris, France et Université de Paris, Paris, France

³ Service d'immunologie, UF auto-immunité, Hospices civils de Lyon, CHLS, Pierre-Bénite, France

⁴ Immunologie, Laboratoire Eurofins Biomnis, Lyon, France

⁵ Département d'immunologie, UF immunochimie & auto-immunité, CHU Pitié Salpêtrière-Charles-Foix, AP(HP), Paris, France

Résumé. L'accréditation des examens d'analyse médicale, selon la norme NF EN ISO 15189, s'appuie sur un dossier de validation de méthodes devant établir la vérification des performances de la méthode avec prise en compte de tous les facteurs pouvant avoir une influence sur les résultats. L'auto-immunité regroupe de nombreux examens et techniques, parmi lesquelles les techniques d'immunofluorescence indirecte (IFI) dont les performances sont directement conditionnées par les compétences des personnels. Les niveaux de compétence requis doivent être définis *a priori* ; une habilitation consécutive à l'évaluation des compétences, elle-même secondaire à une formation adaptée doit être établie pour chaque membre du personnel, afin d'autoriser la réalisation des examens biologiques en IFI. Le groupe français de l'*European autoimmunity standardisation initiative group* (EASI) propose des fiches d'habilitation précisant l'ensemble des critères et éléments de preuve de la maîtrise et du maintien des compétences en distinguant deux étapes : la préparation des lames puis leur lecture. Ces fiches peuvent être un support à la formation et à l'habilitation du personnel en IFI et sont à adapter à la pratique et à l'activité de chaque laboratoire.

Mots clés : *accréditation, auto-immunité, formation, habilitation, immunofluorescence indirecte*

Abstract. The ISO 15189 accreditation of biological analysis needs the validation of the analytical methods allowing the evaluation of their performance including all the factors that could influence the quality of their results. The field of autoimmunity includes many analyses and methods such as the indirect immunofluorescence technique (IIF) and the performance of this technique largely depends on the competency of staff members. For each staff member, the required levels of competency have to be precisely defined and evaluated after a period of formation before the final habilitation for the IIF technique. The French group of the international group called EASI (European autoimmunity standardisation initiative) proposes two habilitation forms to be filled with criteria, evidence and maintenance of target skills for the IIF preparation of slides and reading. These forms could be used as a model for the IIF formation and habilitation and have to be adapted to the routine practice of the laboratories.

Key words: *accreditation, autoimmunity, indirect immunofluorescence technique, training*

Article reçu le 14 septembre 2020,
accepté le 22 octobre 2020

Correspondance : L. Guis-Cabanne
<LaurenceGuisCabanne@eurofins-
biomnis.com>

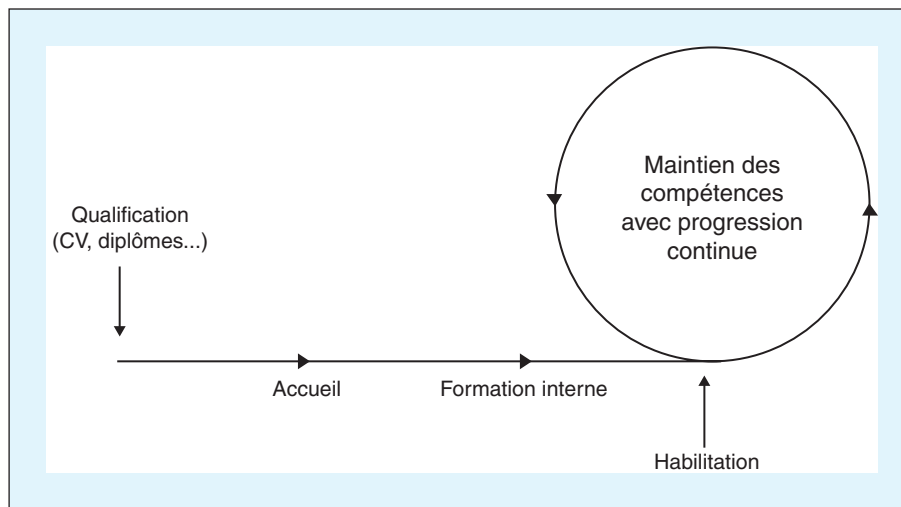


Figure 1. Les différentes étapes de l'habilitation.

En France, l'accréditation des laboratoires de biologie médicale selon la norme NF EN ISO 15189 [1] est devenue obligatoire depuis l'ordonnance du 13 janvier 2010. La mise en œuvre de la démarche d'accréditation permet une amélioration de la qualité des prestations pour le patient et le prescripteur et une sécurisation des pratiques grâce à leur harmonisation et leur traçabilité. Le suivi permanent du système de management de la qualité offre une garantie de compétence et de maîtrise dans le temps.

Pour les laboratoires de biologie médicale, l'accréditation des examens s'appuie sur un dossier de validation de méthodes devant établir la vérification des performances de la méthode et devant aussi prendre en compte tous les facteurs pouvant avoir une influence sur les résultats.

L'auto-immunité est un domaine d'analyses complexes qui regroupe de nombreux examens et techniques, parmi lesquelles les techniques d'immunofluorescence indirecte (IFI) utilisées notamment pour la recherche d'anticorps anti-nucléaires (AAN) ou d'anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA), et dont les performances sont directement conditionnées par les compétences des personnels. Ainsi, il convient de bien définir les niveaux de compétence requis *a priori* et d'établir, pour chaque membre du personnel, une habilitation formelle avant prise de poste, une réhabilitation en cas d'absence prolongée, et de vérifier le maintien des compétences de chacun dans le temps. Afin d'accompagner les laboratoires impliqués dans cette démarche, nous proposons des fiches d'habilitation à ces postes de travail en distinguant deux étapes : la préparation des lames, puis leur lecture. Deux niveaux de compétences ont été définis pour la première étape et trois niveaux pour la seconde.

Ces fiches constituent un support adapté à la pratique quotidienne, guidant point par point les étapes de la

formation et permettant de tracer les preuves des compétences acquises et de leur maintien dans le temps. Ceci est le gage de la qualité des résultats rendus en IFI et de leur harmonisation entre les personnels au sein du laboratoire.

Quelles sont les exigences en matière d'habilitation du personnel ?

Le Comité français d'accréditation (Cofrac) a publié des guides et référentiels précisant les dispositions mises en place pour être conforme à la norme NF EN ISO 15189 [2, 3]. Selon le SH GTA 01. Rév 02 (chap 5.1.1) [2], « le laboratoire doit s'assurer que l'ensemble de son personnel est qualifié et autorisé à réaliser les tâches après évaluation des compétences (habilitation) » (*figure 1*).

La qualification est à distinguer de l'habilitation qui est l'autorisation à réaliser des tâches. Les qualifications correspondent à des « aptitudes associées à des connaissances », c'est-à-dire des diplômes requis ou une expérience équivalente. L'habilitation permet de vérifier que les connaissances acquises peuvent être appliquées en adéquation avec la pratique du laboratoire et établit une autorisation à réaliser les tâches.

Le maintien continu des compétences s'appuie sur la participation de tous les intervenants aux contrôles externes de qualité (EEQ), sur la comparaison des lectures au microscope entre techniciens et biologistes et sur le partage d'informations des cas particuliers ou rares [4].

Ainsi, chaque étape doit être évaluée, des critères de maîtrise définis et des preuves de compétences tracées et conservées.

Comment répondre à ces exigences pour l'IFI ?

En auto-immunité, de nombreux examens biologiques sont qualitatifs et les dossiers de validation de méthode reposent pour une grande part sur l'analyse de risques et la vérification des compétences du personnel [4].

L'IFI est la technique de référence pour la recherche de nombreux auto-anticorps (Ac). Elle est pratiquée sur différents substrats tels que, pour les plus courants, les cellules HEP2 pour les AAN, les polynucléaires neutrophiles pour les ANCA, des coupes d'organes (foie/rein/estomac) pour les Ac anti-mitochondries, Ac anti-actine, Ac anti-LKM, Ac anti-cellules pariétales, des coupes d'œsophage de singe pour les Ac anti-endomysium. Les résultats sont rendus sous forme de titre, avec un seuil de positivité, associé à l'aspect de fluorescence.

Pour le dépistage des AAN, l'IFI a été reconnue en 2010 comme technique de référence par l'*American college of rheumatology* et elle est également la technique retenue en France par la nomenclature des actes de biologie médicale [5].

De même, la démarche du diagnostic biologique des ANCA repose sur l'utilisation de l'IFI en dépistage suivie de l'identification des spécificités des anticorps anti-MPO et anti-PR3 [6].

L'IFI est influencée par de nombreux paramètres dont les principaux sont la nature du substrat, de la globuline, des tampons, ainsi que les modalités de lecture (automatisées ou pas, type de microscope, subjectivité du lecteur, expérience différente) [3, 5-8]. Il en résulte une grande variabilité inter-laboratoire comme en témoignent les résultats des contrôles externes de qualité en auto-immunité [9].

Devant ces difficultés, une harmonisation des pratiques professionnelles en auto-immunité est apparue nécessaire et un groupe de travail international, l'*EASI Group (European auto-immunity standardisation initiative)*, a été créé en 2002. Il a comme objectif de proposer des recommandations dans divers domaines de l'auto-immunité et notamment celui du dépistage des AAN et des ANCA [5, 6, 10-14].

Dans ce contexte, nous nous sommes attachés aux facteurs de variation liés à la formation du personnel, son habilitation et la vérification du maintien de ses compétences, facteurs estimés critiques pour les examens dont le rendu des résultats est qualitatif.

Technique d'immunofluorescence indirecte : préparation des lames

En IFI, la phase de préparation des lames est essentielle car elle conditionne la lecture et donc la qualité des résultats rendus aux cliniciens et aux patients. Pour cette phase,

relevant principalement des techniciens de laboratoire, nous avons distingué deux niveaux de compétences : un premier niveau, « Utilisateur régulier », auquel prétendent les techniciens qui occupent le poste en routine et un second niveau « Référent », pour lequel des connaissances pratiques plus approfondies sont requises.

Les « fiches d'habilitation au poste » (*Annexe 1*) telles que nous les avons établies ici constituent un support essentiel de la formation et de l'habilitation du personnel. Elles décrivent point par point les tâches à maîtriser et définissent de manière objective les critères permettant de s'en assurer, ainsi que les éléments de preuves qui doivent être tracés et conservés. Cette liste d'items à vérifier n'est pas exhaustive et pourra être adaptée à la pratique de chaque laboratoire, mais elle constitue une base de travail essentielle, résultant de notre expérience. De la même façon, le nombre d'examens à réaliser sous l'égide du formateur est conditionné par l'activité du laboratoire et doit être estimé de manière réaliste.

Après une absence d'une durée supérieure à 6 mois, il convient de consacrer un temps minimum au personnel qui revient à ce poste de travail, afin de vérifier que ses compétences sont conservées et, si ce n'est pas le cas, d'effectuer les rappels nécessaires. De la même façon, une grille spécifique a été établie pour garantir la qualité attendue, vérifiée à chaque étape, pour les deux niveaux de compétences initialement définis.

Sur le même modèle, nous proposons une grille de « Maintien des compétences », à compléter régulièrement, distinguant les critères et preuves de compétence requis pour les deux niveaux d'habilitation définis initialement, « Utilisateur régulier » et « Référent ».

Dans tous les cas, les fiches d'habilitation doivent être conclues par un biologiste responsable qui prononce l'habilitation, au terme de la formation/habilitation/réhabilitation, à une date précise. Il évalue le niveau d'aptitude de la personne et décide d'une éventuelle formation complémentaire avant prise du poste. Il en est de même pour le maintien de l'habilitation, à réaliser à une fréquence à déterminer par le laboratoire mais que nous recommandons au minimum tous les deux ans. Ces fiches doivent être datées, signées et conservées pour démontrer les compétences des personnels en poste.

Technique d'immunofluorescence indirecte : lecture

En IFI, la phase de lecture des lames est critique car elle détermine le résultat rendu au clinicien, dont découle en grande partie le diagnostic et dans certains cas, le pronostic et le suivi thérapeutique des patients. Elle peut également déterminer ou non, la réalisation d'analyses complémentaires.

Cette phase est conditionnée par la qualité de préparation des lames, d'où l'importance accordée aux compétences des personnes qui en ont la charge. Elle nécessite en outre des connaissances théoriques et un temps de formation suffisant pour acquérir une expérience pratique minimale, qui sera développée et enrichie au fil du temps.

Ainsi, pour la phase de lecture, trois niveaux de compétence ont été définis : le niveau 1, accordé au terme d'une formation « de base » ; le niveau 2, à l'issue d'une formation « avancée » et le niveau 3, correspondant à un « référent lecture ». Les différents niveaux requièrent une formation théorique et une formation pratique détaillées, qui devront être adaptées à l'activité particulière de chaque laboratoire (Annexe 2).

La formation théorique peut utiliser de nombreux supports, avec une liste non exhaustive présentée en annexe (Annexe 3). Des documents peuvent être également rédigés en interne par les laboratoires.

Les connaissances théoriques sont vérifiées par un quiz dont le pourcentage de bonnes réponses requis doit être prédéfini par le référent niveau 3. Des exemples de quiz sont proposés ici, adaptés à l'évaluation des niveaux 1 (après une formation « de base ») et 2 (après une formation « avancée ») (Annexes 4 et 5), mais des quiz plus adaptés aux pratiques spécifiques du laboratoire peuvent être élaborés.

La formation pratique nécessite la lecture de lames avec des aspects connus positifs, puis la lecture des lames de routine. Une des questions posées est le nombre minimum de puits à lire pour chaque anticorps pour assurer la compétence d'un lecteur. Actuellement aucune donnée publiée ne permet de répondre à cette question ; ainsi, le nombre de puits à lire par type d'anticorps est donné à titre d'exemple en Annexe 2 sachant que cette donnée est à adapter en fonction de l'activité du laboratoire. Cette compétence implique la confrontation et l'harmonisation entre les différents lecteurs (Annexe 2).

Conclusion

Pour répondre aux exigences spécifiques de la norme NF EN ISO 15189 et du recueil SH REF02, le laboratoire doit avoir mis en place un processus d'habilitation. L'habilitation, qui correspond à une autorisation à réaliser une activité ou une tâche, est consécutive à l'évaluation des compétences, elle-même secondaire à une formation adaptée. Nous avons élaboré des fiches pratiques pour la technique d'IFI en auto-immunité précisant l'ensemble des critères et éléments de preuve de la maîtrise et du maintien des compétences, garantissant la qualité des examens réalisés et, par là même, celles des soins prodigués aux patients.

Liens d'intérêts : les auteurs déclarent ne pas avoir de lien d'intérêts en rapport avec cet article.

Références

1. Norme NF EN ISO 15189. Laboratoires d'analyses de biologie médicale. Exigences concernant la qualité et la compétence. Afnor, décembre 2012.
2. Cofrac. Guide technique d'accréditation en biologie médicale. SH GTA 01 (Rév 02).
3. Cofrac. SH REF02 : exigences pour l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 (Rév 05).
4. Coito S. Accréditation en auto-immunité : retour d'expérience. *Feuilles de biologie* 2015 ; 326 : 1-9.
5. Musset L, Fabien N, Chyderiotis G, Olsson NO, Pham BN, Durey Dragon MA. Recherche et identification des anticorps antinucléaires : analyse du questionnaire européen de l'EASI groupe et confrontation des pratiques françaises aux recommandations internationales. *Ann Biol Clin* 2018 ; 76 : 185-95.
6. Dragon-Durey MA, Fabien N, Chyderiotis G, Musset L, Pham B-G, Olsson N. Recherche d'anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) : analyse du questionnaire européen de l'EASI groupe et confrontation des pratiques françaises aux recommandations internationales. *Ann Biol Clin* 2017 ; 75 : 531-41.
7. Fortenfant F, Taillefer MF. L'accréditation en auto-immunité. *Rev Fr Lab* 2010 ; 424 : 40-3.
8. Stanley J, Naides, Jonathan R, Gyorgy A, Bashleben C, Ansari MQ. Antinuclear antibodies (ANA) testing method variability: a survey of participants in the College of American pathologists' (CAP) proficiency testing program. *J Rheum* Epub ahead of print March 15; 2020. <https://doi.org/10.3899/jrheum.190933>.
9. Pham BN, Albaredo S, Guyard A, Burg E, Maisonneuve P. Impact of external quality assessment on antinuclear antibody detection performance. *Lupus* 2005 ; 14 : 113-9.
10. Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, Witte T, Herold M, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 2014 ; 73 : 17-23.
11. Sack U, Bossuyt X, Andreeva H, Antal-Szalmás P, Bizzaro N, Bogdanos D, et al. Quality and best practice in medical laboratories – specific requests for autoimmunity testing. *Autoimmunity highlights* 2020 ; sous presse.
12. Senant M, Musset L, Chyderiotis G, Guis-Cabanne L, Damoiseaux J, Fabien N, et al. Precision of autoantibody assays in clinical diagnostic laboratories: what is the reality? *Clin Biochem* 2020 ; 83 : 57-64.
13. Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, de Melo Cruvinel W, Carvalho Franciscantonio PL, et al. Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody HEp-2 Cell patterns 2014-2015. *Front Immunol* 2015 ; 6 : 412.
14. Damoiseaux J, Coelho Andrade LE, Carballo OG, Conrad K, Carvalho Franciscantonio PL, Fritzler MJ, et al. Clinical relevance of HEp-2 indirect immunofluorescent patterns: the international consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. *Ann Rheum Dis* 2019 ; 78 : 879-89.

Annexe 1. Fiches d'habilitation, ré-habilitation et maintien des compétences : préparation des lames d'immunofluorescence indirecte

Nom de la personne qualifiée :

 Habilitation initiale

 Réhabilitation

 Maintien des compétences

Niveaux d'habilitation :

- Niveau 1 (N1) : Utilisateur régulier
- Niveau 2 (N2) : Rêfèrent

Abbréviations : A : acquis, AA : à améliorer, CIQ : contrôle interne de qualité, EEQ : évaluation externe de qualité, IFI : immunofluorescence indirecte, N : niveau, NC : non concerné

NB : Un objectif noté « à améliorer » n'est pas bloquant pour la validation de l'habilitation initiale

I. Habilitation initiale

Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date de l'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom et signature formateur	Signature personne formée
1. Pré-requis :						
- N1 : Connaissances des logiciels documentaires et des systèmes informatiques	Suivre une formation	Date de formation : Attestation				
- N2 : Être N1 depuis 6 mois	Être N1 depuis 6 mois	Date habilitation N1 :				
2. Lecture des documents du poste - Fiches de poste - Mode opératoire des automates - Instructions Différentes techniques automatisées, manuelles	Lecture et compréhension des documents Lister les références des documents qualité	Attestation de lecture des documents : cf. logiciel de gestion de la qualité				
Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date de l'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom et signature formateur	Signature personne formée
Habilitation Niveau 1 : Utilisateur régulier						
3. Formation pratique à l'utilisation de l'automate <input type="checkbox"/> Mise en route <input type="checkbox"/> Utilisation de l'automate <input type="checkbox"/> Gestion des réactifs (déstockage, commande) <input type="checkbox"/> Gestion des contrôles <input type="checkbox"/> Analyse et validation des CIQ <input type="checkbox"/> Connaissance des EEQ <input type="checkbox"/> Création de listes de travail <input type="checkbox"/> Connaissance des titrages <input type="checkbox"/> Connaissance des interférences (ex : hémolyse) <input type="checkbox"/> Validation technique de la série <input type="checkbox"/> Gestion des maintenances journalières, hebdomadaires, mensuelles (réalisation et validation) <input type="checkbox"/> Gestion des pannes (détection, identification, contact SAV, rapport d'intervention, requalification de l'automate,...) : si aucune panne n'a lieu lors de la formation, cet item devra être ajouté en complément de formation	Étape 1 : Observation (formation par le fournisseur ou par un technicien habilité) <input type="checkbox"/> 1 série minimum Étape 2 : réalisation avec formateur <input type="checkbox"/> 1 série minimum avec des échantillons connus et avec CIQ conformes aux résultats attendus Étape 3 : seul avec formateur disponible <input type="checkbox"/> 1 série minimum avec des échantillons connus et avec CIQ conformes aux résultats attendus <input type="checkbox"/> Avis favorable du formateur sur la gestion du poste	Attestation du fournisseur ou du formateur au poste Photocopie des listes de travail et CIQ avec date(s) et initiales du formateur (à joindre à la fiche d'habilitation) Photocopie des listes de travail et CIQ avec date(s) et initiales du formateur (à joindre à la fiche d'habilitation) Validation par le biologiste :				
Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date de l'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom et signature formateur	Signature personne formée
4. Techniques manuelles <input type="checkbox"/> Gestion des réactifs (déstockage et commande) <input type="checkbox"/> Gestion des contrôles *analyse et validation des CIQ *connaissance des EEQ <input type="checkbox"/> Création de listes de travail	Étape 1 : Observation (formation par un technicien habilité) <input type="checkbox"/> 1 série minimum Étape 2 : réalisation avec formateur <input type="checkbox"/> 1 série	Formateur au poste Photocopie des listes de travail et CIQ avec date(s) et initiales du				

<input type="checkbox"/> Connaissance des titrages <input type="checkbox"/> Connaissance des interférences (ex : hémolyse) <input type="checkbox"/> Validation technique de la série	minimum (2 lames minimum) avec des échantillons connus et avec CIQ conformes aux résultats attendus Étape 3 : seul avec formateur disponible <input type="checkbox"/> 1 série minimum (2 lames minimum) avec des échantillons connus et avec CIQ conformes aux résultats attendus <input type="checkbox"/> Avis favorable du formateur sur la gestion du poste	formateur (à joindre à la fiche d'habilitation) Photocopie des listes de travail et CIQ avec date(s) et initiales du formateur (à joindre à la fiche d'habilitation) Validation par le biologiste :				
Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date de l'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom et signature formateur	Signature personne formée
Habilitation Niveau 2 : Réfèrent						
5. Connaissances pratiques approfondies de l'automate/techniques manuelles <input type="checkbox"/> Gestion des maintenances mensuelles/annuelles <input type="checkbox"/> Exploitation des EEQ (optionnel) <input type="checkbox"/> Gestion des pannes : aide aux N1 <input type="checkbox"/> Gestion des versions de notices <input type="checkbox"/> Rédaction des documents qualité en rapport avec le poste	Observation (formation par le fournisseur ou par un technicien habilité N2)	Attestation par le fournisseur ou par N2 au poste Date de la panne et traçabilité de l'intervention (rapport scanné) Photocopie d'une notice Numéro des documents rédigés :				
II. Réhabilitation : après une absence sur le poste supérieure à 6 mois						
Date de 1^{re} habilitation :						
Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date de l'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom /signature formateur	Signature personne formée
Niveau 1 : Utilisateur régulier						
1. Relecture des documents qualité en rapport avec le poste	<input type="checkbox"/> Lecture et compréhension des documents	Attestation de lecture des documents : cf. logiciel de gestion de la qualité				
2. Formation pratique à l'utilisation de l'automate <i>Cf. Formation initiale</i>	Étape 1 : réalisation avec formateur <input type="checkbox"/> 1 série avec des échantillons connus et avec CIQ conformes aux résultats attendus Étape 2 : seul avec formateur disponible <input type="checkbox"/> 1 série avec des échantillons connus et avec CIQ conformes aux résultats attendus <input type="checkbox"/> Avis favorable du formateur sur la gestion du poste	Photocopie des listes de travail et CIQ avec date(s) et initiales du formateur (à joindre à la fiche d'habilitation) Photocopie des listes de travail et CIQ avec date(s) et initiales du formateur (à joindre à la fiche d'habilitation) Validation par le biologiste				

Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date de l'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom et signature formateur	Signature personne formée
3. Techniques manuelles <i>Cf. Formation initiale</i>	Étape 1 : réalisation avec formateur : <input type="checkbox"/> 1 série (2 lames minimum) avec des échantillons connus et avec CIQ conformes aux résultats attendus Étape 2 : seul avec formateur disponible : <input type="checkbox"/> 1 série (2 lames minimum) avec des échantillons connus et avec CIQ conformes aux résultats attendus <input type="checkbox"/> Avis favorable du formateur sur la gestion du poste	Photocopie des listes de travail et CIQ avec date(s) et initiales du formateur (à joindre à la fiche d'habilitation) Photocopie des listes de travail et CIQ avec date(s) et initiales du formateur (à joindre à la fiche d'habilitation) Validation par le biologiste :				
Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date de l'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom /signature formateur	Signature personne formée
Niveau 2 : Référent						
1. Relecture des documents qualité en rapport avec le poste	<input type="checkbox"/> Lecture et compréhension des documents	Attestation de lecture des documents : <i>cf.</i> logiciel de gestion de la qualité				
2. Reformation approfondie à l'utilisation de l'automate	Étape 1 : reformation par un technicien habilité	Attestation fournisseur ou N2 au poste				
<i>Cf. Formation initiale</i>	N2	Date de la panne et traçabilité de l'intervention (rapport scanné) Photocopie d'une notice Numéro des documents rédigés :				
Maintien des compétences : tous les 2 ans						
Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date de l'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom /signature formateur	Signature personne formée
Niveau 1	<input type="checkbox"/> Réalisation d'au moins 4 techniques automatisées tous les 6 mois <input type="checkbox"/> Réalisation d'au moins 2 techniques d'IFI manuelle tous les 6 mois (chiffre à adapter en fonction de l'activité du laboratoire) <input type="checkbox"/> Réalisation d'au moins 1 EEQ conforme par an techniques automatisées et 1 EEQ/2 ans pour les techniques manuelles <input type="checkbox"/> Être à jour de lecture des documents liés au poste <input type="checkbox"/> Critères N 1	<i>cf.</i> planning <i>cf.</i> planning <i>cf.</i> suivi des EEQ avec les identifications des EEQ Attestation de lecture des documents : <i>cf.</i> logiciel de gestion de la qualité				
Niveau 2	<input type="checkbox"/> Gestion d'une maintenance annuelle ou mensuelle ou rédaction d'un document lié au poste	<i>cf.</i> calendrier des maintenances : date Ou nom du document rédigé :				
<p>Approbation du biologiste responsable : l'habilitation est prononcée au terme de la qualification</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aptitude à occuper le poste <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non - Niveaux d'aptitude <input type="checkbox"/> Niveau 1 <input type="checkbox"/> Niveau 2 - Formation à compléter <input type="checkbox"/> oui <input type="checkbox"/> non <p>Si oui, compléments à préciser :</p> <p>Date : Signature de la personne formée Signature du biologiste responsable</p> <p>Poste pris la première fois le :</p>						

Annexe 2. Fiches d'habilitation, réhabilitation et maintien des compétences : lecture des lames d'immunofluorescence indirecte

Nom de la personne qualifiée :	Formation initiale <input type="checkbox"/>
	Réhabilitation <input type="checkbox"/>
	Maintien des compétences <input type="checkbox"/>

Niveaux d'habilitation :

- Niveau 1 (N1) : Formation de base
- Niveau 2 (N2) : Formation avancée
- Niveau 3 (N3) : Référent lecture

Abréviations : A : acquis, AA : à améliorer, AAN : anticorps antinucléaires, ANCA : anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles ; EEQ : évaluation externe de qualité, IFI : immunofluorescence indirecte, N : niveau, NC : non concerné

NB : Un objectif noté « à améliorer » n'est pas bloquant pour la validation de l'habilitation initiale

I. Habilitation initiale

Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date de l'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom et signature formateur	Signature personne formée
Habilitation Niveau 1 : Formation de base						
1. Formation théorique <input type="checkbox"/> Connaître l'intérêt de la recherche d'anticorps par IFI <input type="checkbox"/> Connaître les différents substrats utilisés en IFI (HEp-2, triple substrat, PNN, etc.) <input type="checkbox"/> Connaître les principaux aspects en IFI sur les différents substrats : <input type="checkbox"/> AAN <input type="checkbox"/> ANCA <input type="checkbox"/> Triple substrat <input type="checkbox"/> Surrénales <input type="checkbox"/> Endomysium <input type="checkbox"/> Oaires <input type="checkbox"/> Intestin <input type="checkbox"/> Cellules transfectées (Phospholipase A2 récepteur, aquaporine 4) <input type="checkbox"/> Pancréas (endocrine, exocrine) <input type="checkbox"/> Myéline <input type="checkbox"/> autres.....	<input type="checkbox"/> Réalisation d'une formation théorique avec un biologiste à l'aide de différentes ressources à préciser Livres Publications Sites internet CDROM Diaporamas Formations externes <input type="checkbox"/> Contrôle des connaissances à l'aide d'un quiz N1 % de réponses correctes à définir par le laboratoire	Initiales et dates de la formation théorique avec un biologiste Citer les ressources utilisées Résultat du quiz : à intégrer				

Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date finale d'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom et signature formateur	Signature personne formée
Habilitation Niveau 1 : Formation de base						
2. Formation pratique <input type="checkbox"/> Savoir apprécier l'intensité de la fluorescence : - Négatif - Faible positif à montrer - Positif <input type="checkbox"/> Savoir se référer au lecteur N2 ou N3	- Formation pratique au microscope par un lecteur N2 ou N3 avec lecture de lames de sérums connus positifs <input type="checkbox"/> AAN : lecture en double de 200 puits avec un minimum de 20 % de positifs <input type="checkbox"/> ANCA : lecture de 100 puits avec un minimum de 20 % de positifs <input type="checkbox"/> Triple substrat : lecture de 100 puits avec un minimum de 20 % de positifs Critères de conformité <input type="checkbox"/> 0% de négatif rendu positif à 2 titres <input type="checkbox"/> ≤ 5% de négatifs rendus positif au seuil - Autres lames :	Date et initiales Photocopie des listes de travail et CIQ avec date(s) et initiales du formateur (à joindre à la fiche d'habilitation)				

	<input type="checkbox"/> Surrénales, Endomysium, AQP4, MOG, PLA2R, îlots de Langerhans, pancréas exocrine, myéline : lecture d'au moins 20 puits avec un minimum de 10 % de positifs <input type="checkbox"/> Ovaires/intestin : lecture d'au moins 10 puits avec un minimum de 10 % de positifs Critère : 0 % de négatif rendu positif					
Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date de l'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom et signature formateur	Signature personne formée
3. Lecture des documents du poste - Fiches de poste - Instructions Différentes techniques automatisées, manuelles	<input type="checkbox"/> Lecture et compréhension des documents lister les références des documents qualité	Attestation de lecture des documents : cf. logiciel de gestion de la qualité				
Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date finale d'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom et signature formateur	Signature personne formée
Habilitation Niveau 2 : Formation avancée						
1. Pré requis						
- Être lecteur Niveau 1 depuis 6 mois, consécutifs ou non Ou - Acquis antérieurs (preuves à fournir)	<input type="checkbox"/> Être N1 depuis 6 mois <input type="checkbox"/> Acquis antérieurs	Date d'habilitation N1 : Preuves à fournir et visa du biologiste responsable :				
2. Formation pratique						
Savoir reconnaître les différents aspects en IFI (liste non exhaustive) AAN <input type="checkbox"/> Homogène <input type="checkbox"/> Moucheté <input type="checkbox"/> Moucheté type SS-A <input type="checkbox"/> Moucheté type UI-RNP <input type="checkbox"/> Moucheté type matrice <input type="checkbox"/> Moucheté sablé type Ku ou Mi2 <input type="checkbox"/> Membranaire <input type="checkbox"/> Nucléolaire <input type="checkbox"/> Dots <input type="checkbox"/> Centromères <input type="checkbox"/> Appareil Mitotique <input type="checkbox"/> PCNA <input type="checkbox"/> Cytoplasmique type myosite <input type="checkbox"/> Cytoplasmique type mitochondrie <input type="checkbox"/> Cytoplasmique autres aspects	<input type="checkbox"/> Formation pratique au microscope par un biologiste ou un lecteur N2 <input type="checkbox"/> Contrôle des connaissances à l'aide d'un quiz N2 (100 % de réponses correctes) AAN Lecture en double de 100 puits positifs : <input type="checkbox"/> 0 % de différence > 1 titre entre N2 et N3 <input type="checkbox"/> 0% de différence d'aspect entre N2 et N3	Date(s) et nom(s) du formateur : Résultat au quiz Photocopie des listes de travail et CIQ avec date(s) et initiales du formateur (à joindre à la fiche d'habilitation)				
Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date finale d'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom et signature formateur	Signature personne formée
Habilitation Niveau 2 : Formation avancée						
2. Formation pratique (Suite)						
ANCA <input type="checkbox"/> Cytoplasmique granuleux type PR3 <input type="checkbox"/> Cytoplasmique mat <input type="checkbox"/> Périnucléaire type MPO <input type="checkbox"/> Périnucléaire fin <input type="checkbox"/> AAN Anticorps détectés sur Triple substrat <input type="checkbox"/> Estomac : cellules pariétales <input type="checkbox"/> Bordure en brosse (hétérophiles) <input type="checkbox"/> Actine <input type="checkbox"/> Muscle lisse non actine <input type="checkbox"/> Mitochondries <input type="checkbox"/> <i>Liver kidney microsomes</i> (LKM) <input type="checkbox"/> Cytosol <input type="checkbox"/> Ribosomes/Signal Recognition Particule (SRP)	- ANCA : lecture de 50 puits positifs : <input type="checkbox"/> 0 % de différence > 1 titre entre N2 et N3 <input type="checkbox"/> 0% de différence d'aspect entre N2 et N3 - Triple substrat : lecture de 50 puits positifs <input type="checkbox"/> 0% de différence > 1 titre entre N2 et N3 <input type="checkbox"/> 0% de différence d'aspect entre N2 et N3	Photocopie des listes de travail et CIQ avec date(s) et initiales du formateur (à joindre à la fiche d'habilitation) Photocopie des listes de travail et CIQ avec date(s) et initiales du formateur (à joindre à la fiche d'habilitation)				

Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date de l'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom et signature formateur	Signature personne formée
Habilitation Niveau 3 : Référent lecture						
1. Pré requis - Être lecteur N2 depuis 6 mois, consécutifs ou non Ou - Acquis antérieurs (preuves à fournir)	<input type="checkbox"/> Être N2 depuis 6 mois <input type="checkbox"/> Acquis antérieurs	Date d'habilitation N2 : Preuves à fournir				
2. Formation pratique <input type="checkbox"/> AAN <input type="checkbox"/> ANCA <input type="checkbox"/> Anticorps détectés sur Triple substrat <input type="checkbox"/> Autres anticorps : liste non exhaustive à adapter en fonction de l'activité du laboratoire Endomysium Surrénales/myéline Cellules transfectées type PLA2R, MOG, AQP4 Pancréas exocrine et endocrine	Au Choix : <input type="checkbox"/> Participation à un groupe d'étude avec lecture d'images en IFI <input type="checkbox"/> Publications avec images en IFI Livres : Publications : Sites internet : CDROM : Diaporamas : Formations externes :	Attestation de participation et nom du groupe Références des ouvrages				
Réhabilitation : Après une absence sur le poste supérieure à 6 mois						
			Date de 1^{re} habilitation :			
Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date de l'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom /signature formateur	Signature personne formée
1. Connaissances théoriques sur l'IFI N1 et/ou N2	<input type="checkbox"/> Formation de rappel avec un biologiste <input type="checkbox"/> Contrôle des connaissances à l'aide d'un quiz Niveau 1 ou Niveau 2 (100 % de réponses correctes)	Date et nom du biologiste Résultat au quiz				
Niveau 1 : Formation initiale						
2. Formation pratique <input type="checkbox"/> Savoir apprécier l'intensité de la fluorescence : - Négatif - Faible positif à montrer - Positif <input type="checkbox"/> Savoir se référer au lecteur de N2	Identique à l'habilitation initiale sauf le nombre de puits <input type="checkbox"/> AAN : 100 <input type="checkbox"/> ANCA : 50 <input type="checkbox"/> Triple substrat : 50 <input type="checkbox"/> Autres lames : idem à l'habilitation initiale	Photocopies des listes de travail				
Niveaux 2 et 3 : Formation avancée						
2. Formation pratique <input type="checkbox"/> Savoir reconnaître les différents aspects en IFI (liste non exhaustive cf. Habilitation initiale)	Identique à l'habilitation initiale sauf le nombre de puits <input type="checkbox"/> AAN : 50 <input type="checkbox"/> ANCA : 25 <input type="checkbox"/> Triple substrat : 25 <input type="checkbox"/> Autres lames idem N1	Photocopies des listes de travail				
Maintien de compétences : tous les 2 ans						
Objectifs	Critères de maîtrise	Preuves de compétences	Date de l'évaluation	Maîtrise A/AA/NC	Nom /signature formateur	Signature personne formée
Niveau 1	<input type="checkbox"/> Lecture 12 jours tous les 6 mois minimum <input type="checkbox"/> Réalisation d'au moins 1 EEQ conforme par an (positif ou négatif) <input type="checkbox"/> Être à jour des documents liés au poste <input type="checkbox"/> Test de concordance de lecture entre les lecteurs N1 et N2 réalisé au moins 1 fois/an	cf. planning EEQ concerné : Attestation de lecture des documents : cf. logiciel de gestion de la qualité Preuve de lecture				

Annexe 4.

Quiz Habilitation techniques d'immunofluorescence, lecteur niveau 1

Questions à choix multiple : entourez les réponses exactes

1. Concernant la recherche des auto-anticorps antinucléaires (AAN) :
 - a. Leur recherche est réalisée dans la majorité des cas en 2 étapes : dépistage en immunofluorescence indirecte (IFI) puis identification de(s) cible(s) antigénique(s)
 - b. Toutes les lames commerciales d'HEp-2 de différents fabricants sont équivalentes et donnent les mêmes images de fluorescence
 - c. La variation d'une dilution pour un titre n'est pas significative
 - d. La technique d'IFI sur cellules HEp-2 est la technique de référence pour leur recherche
 - e. Leur absence permet d'exclure le diagnostic de maladie auto-immune

2. Concernant les lames HEp-2 :
 - a. Les cellules HEp-2 sont issues de culture cellulaire de cellules cancéreuses permettant l'observation de nombreuses mitoses
 - b. Environ 5 % des sujets sains présentent une fluorescence positive à la dilution 1/160
 - c. En cas de positivité en dépistage, une titration est réalisée en diluant le sérum au demi en cascade

3. Concernant la recherche d'anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) :
 - a. La première dilution à tester est identique à celle des AAN
 - b. Des frottis de polynucléaires neutrophiles sont fixés à l'éthanol
 - c. Des polynucléaires éosinophiles sont aussi présents sur la lame et sont importants à observer en cas de présence d'AAN

4. Les tissus présents sur les lames de triple substrat sont :
 - a. Estomac
 - b. Foie
 - c. Surrénales
 - d. Pancréas
 - e. Rein

Réponses : 1 : a, c, d ; 2 : a, b, c ; 3 : b, c ; 4 : a, b, e

Annexe 5.

Quiz Habilitation techniques d'immunofluorescence, lecteur niveau 2

Questions à choix multiple : entourez les réponses exactes

1. Questions générales sur les auto-anticorps antinucléaires (AAN) :
 - a. Leur recherche est réalisée dans la majorité des cas en 2 étapes : dépistage en immunofluorescence indirecte (IFI) puis identification de(s) cible(s) antigénique(s)
 - b. Toutes les lames commerciales d'HEp-2 de différents fabricants sont équivalentes et donnent les mêmes images de fluorescence
 - c. La variation d'une dilution pour un titre n'est pas significative
 - d. La technique d'IFI sur cellules HEp-2 est la technique de référence pour leur recherche
 - e. Leur absence permet d'exclure le diagnostic de maladie auto-immune

2. La fluorescence des AAN peut être localisée au niveau :
 - a. Du noyau
 - b. Du nucléole
 - c. De la membrane nucléaire
 - d. De certains organites cytoplasmiques (ribosomes, mitochondries, golgi...)

3. Une fluorescence de type mouchetée nucléaire peut s'observer en cas de présence d'anticorps anti- :
 - a. SS-A 60 (Ro60)
 - b. DFS70
 - c. Sm
 - d. U1-RNP
 - e. Actine

4. Concernant les aspects nucléaires de fluorescence des AAN :
 - a. Les anticorps anti-centromères ont un aspect particulier consistant en 46 dots dispersés dans le noyau en interphase
 - b. Une fluorescence de type « moucheté dense » peut motiver la recherche d'anticorps anti-DFS70
 - c. Les mitoses sont négatives en cas de fluorescence de type moucheté dense
 - d. La présence d'anticorps anti-Sp100 entraîne une fluorescence de type dot
 - e. La fluorescence de type matrice nucléaire est une fluorescence mouchetée à gros grains
 - f. Plusieurs aspects peuvent être observés pour un même sérum
 - g. La présence d'anticorps anti-NUMA donne une fluorescence d'une partie du fuseau mitotique

5. La présence d'anticorps anti ADNdb :
 - a. Est toujours associée à une fluorescence de type homogène
 - b. Peut être associée à une fluorescence nucléolaire
 - c. Est un marqueur biologique de lupus érythémateux systémique
6. Concernant les aspects cytoplasmiques de fluorescence des AAN :
 - a. La présence d'anticorps anti-actine donne une fluorescence avec un aspect de « câble » correspondant aux filaments d'actine
 - b. La présence d'anticorps anti-mitochondries donne une fluorescence cytoplasmique
 - c. La présence d'anticorps anti-ribosomes donne une fluorescence cytoplasmique
 - d. La présence d'anticorps anti-ribosomes peut être associée à une fluorescence nucléolaire
7. Concernant la recherche d'anticorps anti-cytoplasme des polynucléaires neutrophiles (ANCA) sur lames fixées à l'éthanol :
 - a. Les anticorps anti-PR3 présentent le plus souvent une fluorescence de type périnucléaire
 - b. Les anticorps anti-PR3 présentent le plus souvent une fluorescence de type cytoplasmique granulaire
 - c. Les anticorps anti-MPO présentent le plus souvent une fluorescence de type périnucléaire
 - d. Les anticorps anti-MPO présentent le plus souvent une fluorescence de type cytoplasmique granulaire
 - e. D'autres aspects de type périnucléaire fin ou cytoplasmique non granulaire peuvent être observés
 - f. Une discordance entre l'aspect de l'IFI et l'identification d'anti-PR3 et/ou MPO peut motiver la réalisation de recherche d'ANCA sur lames fixées au formol et au méthanol ou une identification par une autre technique
8. Concernant la recherche d'ANCA avec présence d'AAN sur lames fixées à l'éthanol :
 - a. La présence d'AAN peut perturber la lecture en IFI des ANCA
 - b. La fluorescence nucléaire des polynucléaires éosinophiles permet le plus souvent de confirmer la présence d'anticorps antinucléaires
 - c. Une recherche sur lames fixées au formol ou sur cellules HEp2 peut être réalisée en cas de suspicion de présence d'AAN
 - d. L'identification des anticorps anti-PR3 et MPO doit être réalisée en cas de présence d'anticorps antinucléaires
 - e. Il est possible d'observer une fluorescence nucléaire des polynucléaires neutrophiles en l'absence d'AAN sur cellules HEp2
9. Concernant le triple substrat : anticorps anti-actine et estomac :
 - a. La présence d'anticorps anti-actine est associée à une fluorescence de la musculature de l'estomac
 - b. La présence d'anticorps anti-actine n'est pas associée à une fluorescence de la paroi musculaire des vaisseaux sanguins

- c. La présence d'anticorps anti-actine est associée à une fluorescence avec un aspect caractéristique d'épines dans les tubules rénaux
 - d. La présence d'anticorps anti-ribosomes ou anti-SRP est associée à une fluorescence des cellules principales de l'estomac
 - e. Un marquage de la bordure en brosse des tubes proximaux du rein est toujours associé à un marquage des cellules de l'estomac
 - f. Les AAN ne donnent pas de fluorescence sur triple substrat
10. Concernant le triple substrat : anticorps anti-LKM et mitochondries
- a. La présence d'anticorps anti mitochondries peut masquer la présence d'anticorps anti-réticulum endoplasmique (LKM) ou anti cytosol (LC)
 - b. La présence d'anticorps anti-LKM est associée à une fluorescence des cellules pariétales de l'estomac
 - c. La présence d'anticorps anti mitochondries est associée à une fluorescence des cellules principales de l'estomac
 - d. La présence d'anticorps anti-LKM est associée à une fluorescence de tous les tubules du rein
 - e. Les anticorps anti-mitochondries donnent une fluorescence dans le cytoplasme de toutes les cellules au niveau des trois substrats
- Réponses :** 1 : a, c, d ; 2 : a, b, c, d ; 3 : a, b, c, d ; 4 : a, b, d, e, f, g ; 5 : b, c ; 6 : a, b, c, d ; 7 : b, c, e, f ; 8 : a, b, c, d, e ; 9 : a, c, d, e ; 10 : a, c, e.