



Laboratoire national, services de référence sur le VIH
 Laboratoires nationaux du VIH et de rétrovirologie
 Laboratoire national de microbiologie
 Agence de la santé publique du Canada

Programme d'évaluation de la qualité de la charge virale du VIH Sommaire des résultats obtenus avec le panel HIVV428 2015Oct22

Ce panel a regardé l'impact de la température sur la quantification de la charge virale.

Conditions d'entreposage	Statut réel (pré-manipulation) copies/mL [log ₁₀]	Échantillon du panel	Laboratoires ayant signalé un statut final incorrect
-20°C (13 mois)	1080 [3,03]	C	Résultat incorrect • V28
		E	
-20°C (8 mois)	1080 [3,03]	A	
		D	
-80°C	1080 [3,03]	F	
		H	
-80°C	TND	B	Résultat/interprétation incorrects • V05 • V08 • V26 • V27
		G	

Les participants qui utilisent les trousse Abbott RealTime HIV-1 RNA PCR et Roche CAP/CTM HIV-1 Test v2.0 continuent d'appliquer des critères d'interprétation qui ne respectent pas les directives figurant dans la notice du fabricant (voir à la page 3).

Résultats incorrects :

- 🚩 **V05**: Détecté l'ARN (<SD) dans l'échantillon négatif B et G.
 Résultat : cible non détectée avec une **charge virale < seuil de détection (SD)**
 Interprétation : **détecté l'ARN (<SD)**
- 🚩 **V08** Détecté l'ARN (<SD) dans l'échantillon négatif B.
- 🚩 **V26** Détecté l'ARN dans l'échantillon négatif B.
- 🚩 **V27** : Résultat/interprétation incorrects pour les échantillons négatifs (B & G).
 Résultat : **charge virale < seuil de détection (SD)**
 Interprétation : non détecté
- 🚩 **V28** Détecté l'ARN (<SD) dans l'échantillon positif E.



Laboratoire national, services de référence sur le VIH
 Laboratoires nationaux du VIH et de rétrovirologie
 Laboratoire national de microbiologie
 Agence de la santé publique du Canada

Programme d'évaluation de la qualité de la charge virale du VIH Rapport final concernant le panel HIVV428 2015Oct22

Introduction

Le LNSRV a distribué deux panels pour la sérologie du VIH en avril 2015. Le deuxième panel a été testé après la date d'ouverture du 6 octobre 2015.

Suivant les panels de 2013-2015, pour ce panel, le LNSRV a continué d'examiner les effets de la température d'entreposage sur la charge virale du VIH-1.

Échantillons du panel, trousse de dépistage du VIH et saisie des données

1. *Composition du panel* – Le panel 2015Oct22 comprenait le suivant (tableau 1) :
 - Un échantillon négatif envoyé en double (B et G); plasma humain défibriné.
 - Un échantillon VIH-1 positif, et préparé pour 6 échantillons identiques (A, C, D, E, F et H).
 - Nous avons entreposé les échantillons à diverses températures en double (tableau 1).
 - VIH-1 sous-type B dilué a environ 1000copies/mL dans du plasma humain défibriné (Basemetrix 53. Seracare Life Sciences Inc.).
 - Identique à l'échantillon des panels 2014Apr24, 2014Nov23 et 2015Apr23 (préparé en même temps).

Tableau 1 : Description des échantillons du panel 2015Oct22				
Identification de l'échantillon	Type d'échantillon	Sous-type d'échantillon	Température d'entreposage précédant le transfert à une température de -80°C	Statut réel ¹ (pré-manipulation) copies/mL [log10]
C*	VIH-1	B	-20°C	1080 [3,03]
E*			(13 mois)	
A*	VIH-1	B	-20°C	1080 [3,03]
D*			(8 mois)	
F*	VIH-1	B	-80°C	1080 [3,03]
H*				
B	CND	-	-80°C	CND
G				

* préparé au même temps que les échantillons pour les panels 2014Apr24, 2014Nov23 et 2015Apr23.

1. selon la trousse Roche CAP/CTM v2.0.

Échantillons du panel, trousse de dépistage du VIH et saisie des données (suite)

2. *Trousses de mesure de la charge virale du VIH* – Trois troussees différentes ont été utilisées par les 23 participants (à l'exclusion du LNSRV) qui ont communiqué leurs résultats (figure 1)
3. *Saisie des données* – Le Programme d'évaluation de la qualité du LNSRV a fait appel au système Web Oneworld Accuracy pour saisir et analyser les résultats.
4. *Date de soumissions* – le 22 octobre 2015.
5. *Rapport préliminaire personnalisé de Oneworld Accuracy* – le 28 novembre 2015.

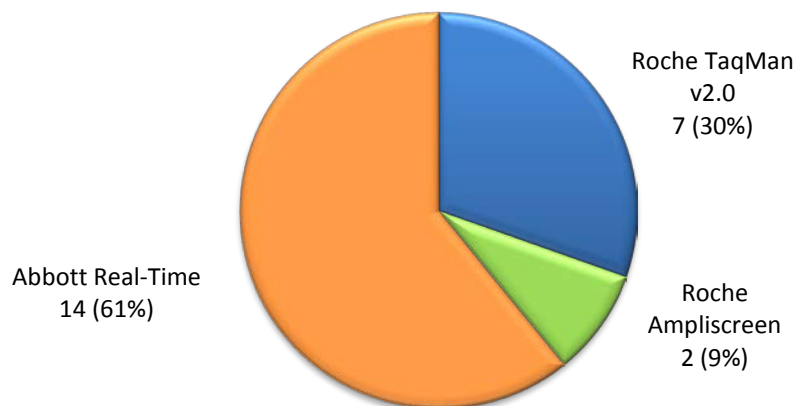


Figure 1 : Répartition des troussees utilisées par les 23 participants pour la mesure de la charge virale du VIH pour le panel 2015Oct22 (à l'exclusion du LNSRV).

Résultats

1. *Taux de réponse* - Les résultats ont été soumis par 85% des participants (23/27).
 - Quatre participants (V25, V37, V39, V43) n'ont pas remis leurs résultats.
 - Taux de réponse moyen de 89,4% sur une période de neuf ans (figure 2).
2. *Résultats* – Les charges virales sont présentées à l'annexe 1 (tableaux 5A-G).

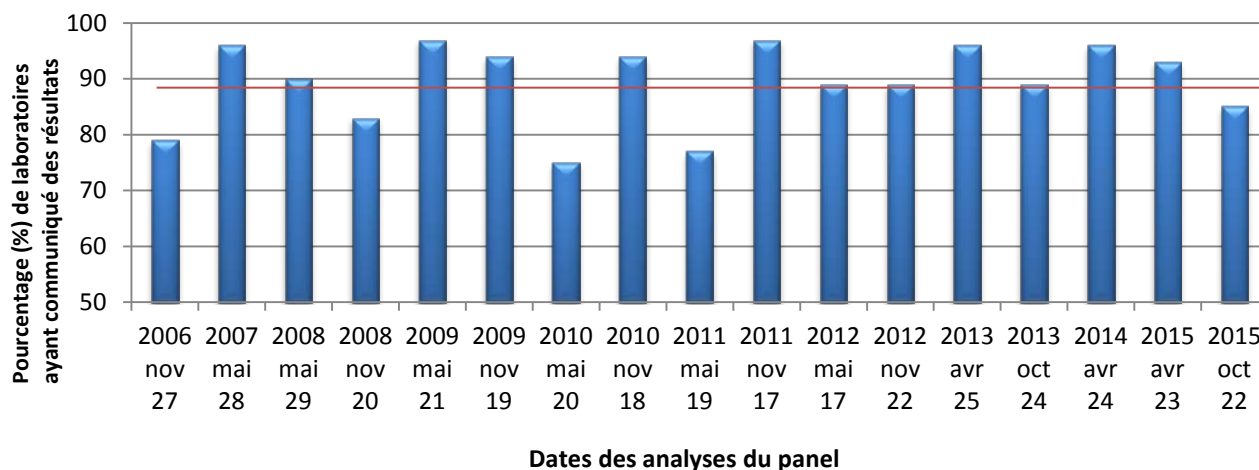








Figure 2 : Pourcentage de laboratoires ayant communiqué des résultats d'analyse de panels sur la mesure de la charge virale du VIH entre 2006 et 2015.

Lacunes

1. Résultats incorrects.

-  **V08** détecté de l'ARN (<SD) dans l'échantillon négatif B.
-  **V26** détecté de l'ARN dans l'échantillon négatif H.
-  **V28** détecté de l'ARN (<SD) dans l'échantillon positif E.

2. Les laboratoires utilisant les trousse Abbott RealTime HIV-1 RNA PCR et Roche CAP/CTM HIV-1 Test v2.0 continuent d'appliquer des critères qui ne respectent pas les directives figurant dans la notice du fabricant.

-  **V05** détecté de l'ARN dans les échantillons négatif B, G. Cependant l'on ne sait pas si c'est parce que l'interprétation de la notice de la fabrication n'a pas été suivie..
-  **V27** résultat cible non détectée, charge virale <SD avec une interprétation finale de non détectée.
-  **V14** résultat cible non détectée, charge virale <SD avec une interprétation finale de détectée <SD.

Échantillon	Résultat	Interprétation
Négatif « Il n'y a aucune preuve de l'ARN »	Cible non détectée	Non détecté
Inférieur au seuil de détection « l'ARN a été détecté , mais il est inférieur au seuil de détection et non quantifiable »	< SD	Détecté < SD
Positif	Détecté	Détecté

Échantillon	Résultat	Interprétation
Négatif	SD	Détecté < SD
Négatif	< SD	Détecté < SD
Négatif	< SD	Détecté
Négatif	< SD	Non détecté

Rouge : Incorrect

Température d'entreposage

Suivant les panels de 2013 et 2014, les panels de 2015 ont continué d'étudier l'effet de l'entreposage à -20°C sur quantification de la charge virale (figure 3 et tableau 4).

Le même échantillon a été utilisé pour les panels de 2015 et 2014 afin de réduire la variation de préparation.

Trois séries de cet échantillon positif ont été entreposés à les températures suivantes pour les panels 2015Apr23 et 2015Oct22 ;

- Série 1 a été mise à -20°C pour 13 mois précédant le transfert à -80°C.
- Série 2 a été mise à -20°C pour 8 mois précédant le transfert à -80°C.
- Série 3 a été mise à la température recommandé de -80°C.

Résultats

1. Entreposage à -20°C pour 13 mois (échantillons C, E)

- *Abbott RealTime 0,6mL (n=14)* – Les résultats des participants (y compris le LNSRV) ont démontré une différence statistique entre l'entreposage à -20°C pour 13 mois et à -80°C ($p < 0,025$).
- *Roche CAP/CTM v2.0 (n=7)* – Les résultats des participants (y compris le LNSRV) ont démontré aucune différence statistique entre l'entreposage à -20°C pour 13 mois et à -80°C ($p > 0,12$).

2. Entreposage à -20°C pour 8 mois (échantillons A, D)

- *Abbott RealTime 0,6mL (n=14)* – Les résultats des participants (y compris le LNSRV) ont démontré une différence statistique entre l'entreposage à -20°C pour 13 mois et à -80°C ($p < 0,047$).
- *Roche CAP/CTM v2.0 (n=7)* – Les résultats des participants (y compris le LNSRV) ont démontré aucune différence statistique entre l'entreposage à -20°C pour 13 mois et à -80°C ($p > 0,15$).

3. Dans l'ensemble (tableau 4, figure 3)

- Aucune différence n'a été observée pour la trousse Roche CAP/CTM v2.0 entre les échantillons entreposés à une température de -20°C et les échantillons entreposés à -80°C ($p > 0,12$) pour les deux panels de 2015.
- Une différence significative a été observée pour la trousse Abbott 0,6mL entre les échantillons entreposés à une température de -20°C pour 8 mois et à -80°C ($p < 0,47$) pour les deux panels de 2015. Il y a également une différence significative entre les échantillons entreposés à une température de -20°C pour 13 mois et à -80°C ($p < 0,25$) pour le panel 2015Oct22 mais pas pour le panel 2015Apr23 ($p > 0,19$).
- La trousse Abbott en générale avait une charge virale plus basse et une gamme plus étroite que la trousse Roche.
- Notez; les autres troussees n'étaient pas évaluées en raison du petit nombre de participants.

Variation interlaboratoires (tableaux 5A, 5B et 5D)

- Différence entre les résultats minimum et maximum pour chaque échantillon au sein d'un groupe de pairs.
- Aucune analyse pour les groupes de $n=1$ (tableau 5C).
- Moyenne de 1,15 pour les groupes de pairs utilisant les troussees Roche CAP/CTM v2.0 et Abbott RealTime (0,6 mL).

Reproductibilité

- Il s'agit d'un aspect important des épreuves de mesure de la charge virale, nécessaire pour quantifier les variations de la charge virale.
- Les échantillons en double du VIH-1 inclus dans le panel ont été utilisés pour évaluer la reproductibilité intralaboratoire des résultats obtenus par les participants.
- Tous les utilisateurs ont signalé un écart-type (ÉT) de 0,24 ou moins entre les échantillons en double.

CQ externe et activités d'AQ

1. *Témoins externes pour le contrôle de qualité (CQ)* – Utilisés en complément des témoins fournis dans les trousse pour permettre aux utilisateurs de détecter les problèmes techniques et de comparer la sensibilité des trousse d'un lot à l'autre. Deux participants n'ont pas fourni de réponse.
 - Onze (48 %, 11/23) participants ont signalé qu'ils utilisaient d'autres témoins pour le CQ.
2. *Programmes d'assurance qualité (AQ)* – Permettent aux participants d'évaluer leur utilisation globale de la trousse et leur communication des résultats. Deux participants n'ont pas fourni de réponse.
 - Onze (48 %, 11/23) participants ont indiqué qu'ils participaient à des programmes d'AQ autres que les panels du LNSRV.

Tableau 4 : Comparaison statistique des résultats obtenus à l'aide des trousse Roche CAP/CTM v.20 et Abbott RealTime 0,6 mL avec des échantillons entreposés à diverses températures (panel de LNSRV 2013-2015)

Échantillon	Température comparé à -80°C	Trousse	Panel	Valeur p
Sous-type B 1080cp/mL Roche CAP/CTM v2.0	-20°C pour 13 mois	Abbott RealTime 0,6mL	2015Oct22	0,0243
			2015Apr23	0,1927
		Roche CAP/CTM v2.0	2015Oct22	0,1262
			2015Apr23	0,9328
	-20°C pour 8 mois	Abbott RealTime 0,6mL	2015Oct22	0,0469
			2015Apr23	0,0217
		Roche CAP/CTM v2.0	2015Oct22	0,1550
			2015Apr23	0,2400
	-20°C pour 35 jours	Abbott RealTime 0,6mL	2014Oct23	0,0600
			2014Apr24	0,9628
		Roche CAP/CTM v2.0	2014Oct23	0,8970
			2014Apr24	0,5628
5 gel/dégel	Abbott RealTime 0,6mL	2014Oct23	0,0283	
		2014Apr24	0,0133	
	Roche CAP/CTM v2.0	2014Oct23	0,1184	
		2014Apr24	0,4141	
Sous-type C 7800cp/mL Roche CAP/CTM v2.0	-20°C pour 6 jours	Abbott RealTime 0,6mL	2013*	0,0076
		Roche CAP/CTM v2.0	2013Oct24	0,4019
			2013Apr25	0,6202
	+4°C pour 6 jours	Abbott RealTime 0,6mL	2013*	0,7960
		Roche CAP/CTM v2.0	2013Oct24	0,9125
			2013Apr25	0,6531

* Les résultats des panels 2013Apr25 et 2013Oct24 ont été combinés étant donné qu'aucune différence statistique n'a été observée entre eux ($p > 0,2$).

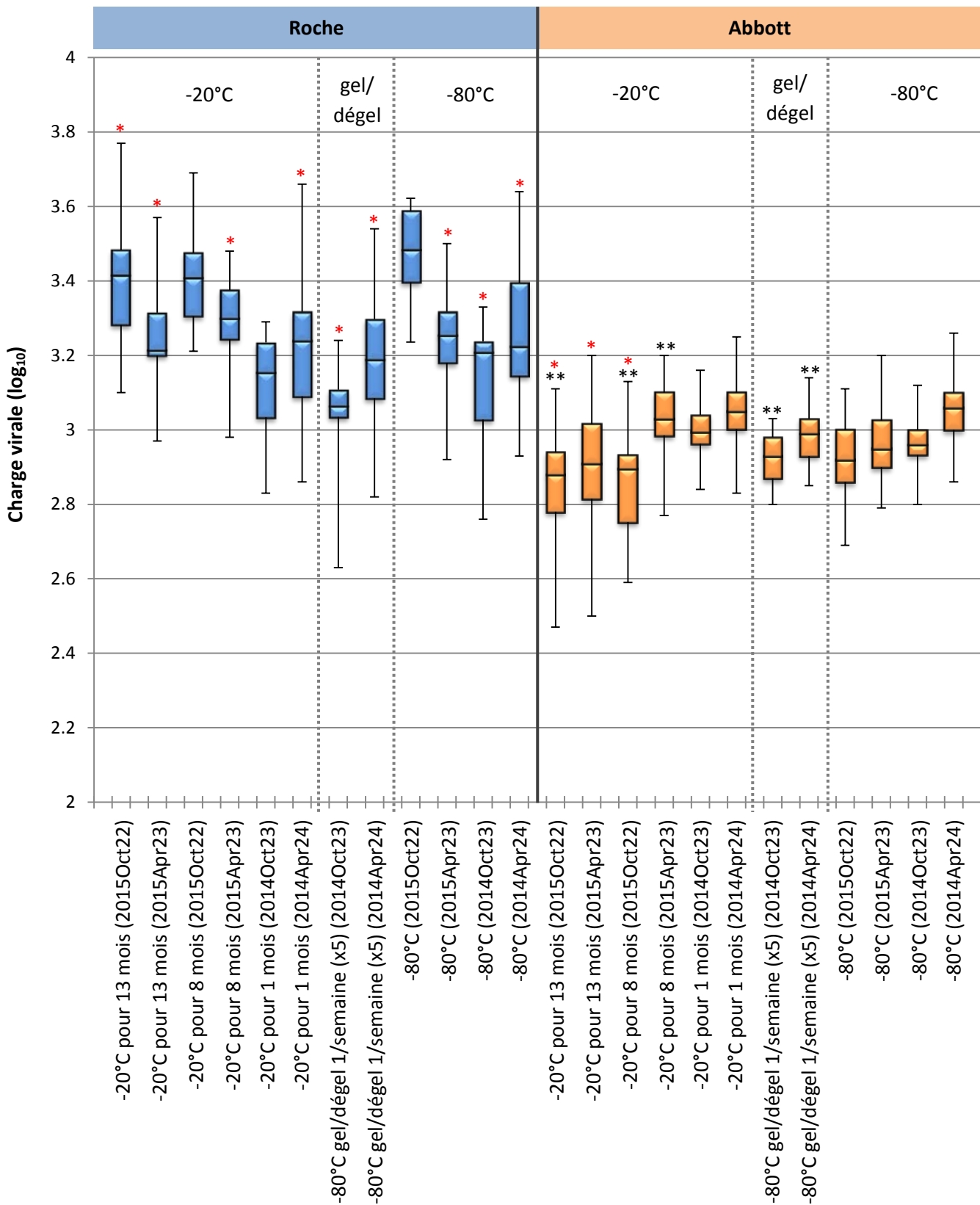


Figure 3: Effet de la température d'entreposage sur la valeur de la charge virale (Log₁₀) pour les panels 2015Oct22, 2015Apr23, 2014Oct23 et 2014Apr24 (sous-type B).

* Différence entre le maximum et le minimum est > 0.5 log₁₀

** Différence significatif (p < 0.05) comparé à l'entreposage recommandé (-80°C)

Conclusion

1. Effet de température

- Pour les panels de 2013 à 2015 le LNSRV a étudié l'effet de 6 entreposages différents comparés à l'entreposage recommandée de -80°C. Les méthodes d'entreposages variaient de gel/dégel, entreposage à températures adverses à court terme courte +4°C/-20°C et à long terme à -20°C.
 - Roche CAP/CTM v2.0: aucune différence statistique pour l'entreposage à température adverse ($p>0.1$).
 - Abbott RealTime 0,6mL: une différence statistique a été observée pour les gel/dégel ($p<0.03$), entreposage à -20°C pour 6 jours ($p<0.01$) et entreposage à -20°C pour 8 mois ou plus ($p<0.025$). Il n'y avait pas de différence statistique pour l'entreposage à -20°C pour 35 jours ou 13 mois ($p>0.06$) et l'entreposage à +4°C pour 6 jours ($p>0.79$).
 - **Notez :** Bien que les données n'aient pas indiqué une différence significative pour l'entreposage adverse pour la trousse Roche, cette trousse avait une variation systématique élevée qui approchait ou dépassait 0,5log.
2. Nos données suggèrent que les échantillons entreposés à -20°C pour jusqu'à 13 mois analysés sur la trousse Roche CAP/CTM v2.0 et les échantillons entreposés à -20°C pour jusqu'à 1 mois analysés sur la trousse Abbott RealTime 0,6mL produiraient les résultats de l'ARN équivalents aux échantillons entreposés à -80°C (la température généralement indiquée dans les guides de la charge virale pour le VIH).
- Cela pourrait être avantageux pour les laboratoires qui n'ont pas accès à des congélateurs et/ou ont par inadvertance pas entreposés les échantillons à -80°C.
3. Le LNSRV continuera de surveiller les problèmes d'interprétation et de communication erronée des résultats « négatifs » comme étant des résultats « inférieurs au seuil de détection »
4. Les programmes de vérification de la compétence sont conçus pour évaluer non seulement l'étape de l'analyse proprement dite des échantillons de patients, mais aussi le processus global entourant l'analyse. Comme il est indiqué à l'annexe 2, les erreurs liées aux analyses peuvent aussi se produire à l'étape préalable à l'analyse, qui comprend le prélèvement des échantillons et les étapes ultérieures à l'analyse.

Nous accordons de l'importance à la participation des laboratoires à ces panels d'EQ et c'est pourquoi nous tenons compte des suggestions formulées pour améliorer les méthodes de saisie et de communication des données.

Nous vous remercions d'avoir participé au Programme d'évaluation de la qualité du LNSRV



Kiana Kadivar

Coordinatrice du programme d'évaluation de la qualité
Laboratoire national, services de référence sur le VIH
Agence de la santé publique du Canada
Tél. : 204-789-6522



Dr. Jehn E. Kim

Chef du laboratoire
Laboratoire national, services de référence sur le VIH
Agence de la santé publique du Canada
Tél. : 204-789-6527

Annexe 1 - Résultats

Legend:

Échantillon négatif détecté <SD
Résultat incorrect
Résultat aberrant, exclus des calculs

Tableau 5A Résultats obtenus à l'aide de la trousse Roche CAP/CTM v2.0 (ARN du VIH en log₁₀ copies/mL)

N° d'id. du laboratoire	Code de l'échantillon								Lot de la trousse	Date de péremption
	A	B	C	D	E	F	G	H		
V04	3,41		3,37	3,37	3,44	3,48		3,62	T13803	2016-11-30
V05	3,43	<SD	3,43	3,28	3,39	3,41	<SD	3,40	T13803	2016-11-30
V06	3,22		3,77	3,47	3,48	3,38		3,58	T13803	2016-11-30
V07	3,54		3,52	3,69	3,55	3,51		3,61	T13803	2016-11-30
V08	3,48	<SD	3,46	3,59	3,49	3,62		3,49	T13803	2016-02-29
V11	3,41		3,10	3,39	3,18	3,30		3,51	T13803	2016-11-30
V33	3,29		3,30	3,32	3,40	3,41		3,62	T13803	2016-11-30
V42	3,21		3,16	2,90	3,23	3,24		3,39	T07651	2016-07-31
Moyenne	3,37		3,39	3,44	3,39	3,42		3,53		
Minimum	3,21		3,10	3,28	3,18	3,24		3,39		
Médiane	3,41		3,40	3,39	3,42	3,41		3,55		
Maximum	3,54		3,77	3,69	3,55	3,62		3,62		
% CV	3,57		6,27	4,32	3,79	3,52		2,74		
ÉT	0,12		0,21	0,15	0,13	0,12		0,10		
Variation inter-lab	1,10		1,22	1,13	1,27	1,12		1,07		

Tableau 5B Résultats obtenus à l'aide de la trousse Abbott RealTime (0,6 mL) (ARN du VIH en log₁₀ copies/mL)

N° d'id. du laboratoire	Code de l'échantillon								Lot de la trousse	Date de péremption
	A	B	C	D	E	F	G	H		
V01	2,93		2,87	2,90	2,91	2,77		2,92	461383	2016-10-10
V02	2,76		2,84	2,89	2,79	2,90		2,91	461383	2016-10-10
V03	2,86		2,94	2,95	2,79	3,01		2,92	460251	2016-08-09
V10	2,92		2,94	2,79	2,81	2,82		2,94	457597	2016-04-06
V12	2,81		2,98	2,91	2,88	2,99		2,98	460251	2016-08-09
V13	2,94		2,81	2,90	2,75	2,81		2,91	460378	2016-08-16
V14	3,00		2,96	2,91	2,93	3,01		3,00	457108	2016-03-29
V17	2,70		2,47	2,59	2,55	2,76		2,51	461383	2016-10-10
V19	2,80		2,53	2,66	2,55	2,69		2,92	461383	2016-10-10
V21	3,00		2,90	2,90	2,70	2,80		3,00	<i>Pas fourni</i>	
V27	2,73	<SD	2,90	2,73	2,89	2,76	<SD	2,93	460251	2016-08-09
V29	2,62		2,73	2,70	2,88	3,01		3,02	461209	2016-10-02
V33	2,79		2,96	2,94	2,97	3,03		2,94	458404	2016-05-20
V41	3,10		3,11	3,13	3,03	2,92		3,11	461383	2016-10-10
Moyenne	2,85		2,85	2,85	2,82	2,88		2,93		
Minimum	2,62		2,47	2,59	2,55	2,69		2,51		
Médiane	2,84		2,90	2,90	2,85	2,86		2,94		
Maximum	3,10		3,11	3,13	3,03	3,03		3,11		
% CV	4,68		6,10	4,93	5,08	4,08		4,55		
ÉT	0,13		0,17	0,14	0,14	0,12		0,13		
Variation inter-lab	1,18		1,26	1,21	1,19	1,13		1,24		

Annexe 1 - Résultats (suite)

Tableau 5C Résultats obtenus à l'aide de la trousse Abbott RealTime (0,2 mL) (ARN du VIH en log ₁₀ copies/mL)										
N° d'id. du laboratoire	Code de l'échantillon								Lot de la trousse	Date de péremption
	A	B	C	D	E	F	G	H		
V36	2,94		2,81	2,96	2,93	2,95		2,99	<i>Pas fourni</i>	

Tableau 5D Résultats obtenus à l'aide de la trousse bioMérieux NucliSens EASYQ HIV-1 V2.0 (ARN du VIH en log ₁₀ copies/mL)										
N° d'id. du laboratoire	Code de l'échantillon								Lot de la trousse	Date de péremption
	A	B	C	D	E	F	G	H		
V26	2,76	3,08	2,86	2,8	2,92	2,94		3,11	14101601	2016-02-28
V28	2,50	<SD	2,10	2,70	<LDL	2,10	<SD	2,7	14112402	<i>Pas fourni</i>
Moyenne	2,63		2,48	2,75		2,52		2,91		
Minimum	2,50		2,10	2,70		2,10		2,70		
Médiane	2,63		2,48	2,75		2,52		2,91		
Maximum	2,76		2,86	2,80		2,94		3,11		
% CV	6,99		21,67	2,57		23,5		9,98		
ÉT	0,18		0,54	0,07		0,59		0,29		
Variation inter-lab	1,10		1,36	1,04		1,40		1,15		

Annexe 2 : Dépannage

Dépannage – causes les plus fréquentes des résultats erronés ou aberrants dans les laboratoires de sérologie et de biologie moléculaire.

Type d'erreur	Cause(s) possible(s)	Avant l'analyse	Pendant l'analyse	Après l'analyse
Interversion d'échantillons	Deux échantillons ou plus peuvent avoir été intervertis, ce qui peut mener à des résultats erronés ou aberrants. Les échantillons peuvent être intervertis lors de la réception ou de l'analyse.	✓	✓	
Transcription	• Mauvais test demandé par le médecin;	✓		
	• Envoi des échantillons au mauvais laboratoire;	✓		
	• Sélection du mauvais test au laboratoire;	✓		
	• Interversion des résultats de deux échantillons ou plus;			✓
	• Saisie incorrecte des résultats;			✓
	• Saisie de valeurs dans le mauvais champ (p. ex. OD au lieu de S/Co);			✓
	• Saisie de valeurs à l'aide de la mauvaise unité (p. ex. UI/mL au lieu de log ₁₀ UI/mL);			✓
	• Utilisation d'une virgule au lieu d'un point avant une décimale;			✓
	• Sélection d'une interprétation de test incorrecte;			✓
	• Omission de recommander des tests de suivi, au besoin			✓
On recommande de faire vérifier par une deuxième personne tous les résultats transcrits ou saisis manuellement pour éviter les erreurs de transcription.				
Résultats d'analyse erronés et/ou aberrants dus à une <u>erreur aléatoire</u>	<u>Des résultats de tests sporadiques jugés erronés ou aberrants peuvent être classés comme des événements aléatoires. Causes possibles des résultats erronés ou aberrants aléatoires :</u>			
	• Mauvaises conditions d'entreposage ou expédition des échantillons	✓	✓	
	• Sélection du mauvais test au laboratoire;	✓	✓	
	• Mélange insuffisant des échantillons, en particulier après la congélation;		✓	
	• Mauvais pipetage;		✓	
	• Lavage inefficace ou irrégulier;		✓	
	• Erreurs de transcription;	✓		✓
	• Interversion d'échantillons;	✓	✓	
• Contamination croisée ou contamination inter-échantillons;		✓		
Résultats d'analyse erronés et/ou aberrants dus à une <u>erreur systématique</u>	<u>Une série de résultats d'analyse jugés erronés ou aberrants peut être due à un problème systématique. Causes possibles des problèmes systématiques :</u>			
	• Réactifs contaminés, périmés ou soumis à une variation de lot;		✓	
	• Erreur ou mauvais fonctionnement d'un instrument;		✓	
	• Lavage insuffisant;		✓	
	• Utilisation de la mauvaise longueur d'onde pour lire les résultats du test;		✓	
	• Cycles trop courts/longs ou température trop élevée/basse;		✓	
	• Incubation trop courte/longue ou température trop élevée/basse;		✓	
	• Mélange/centrifugation insuffisants avant l'analyse;		✓	
	• Entreposage incorrect des trousse d'analyse et/ou des réactifs;	✓		
	• Contamination du mélange réactionnel, des aires d'extraction ou de l'équipement;		✓	
	• Processus d'extraction inefficace;		✓	
	• Dégradation des composants du mélange réactionnel;		✓	
• Conception sous-optimale des amorces (tests internes).		✓		

Ce tableau est inspiré d'un rapport produit par le National Reference Laboratory (NRL) de Melbourne, en Australie.