

Vérification d'une méthode de détection combinée de
C. trachomatis et *N. gonorrhoeae*
par biologie moléculaire

Objectifs

- Répondre aux exigences de la norme NF EN ISO 15189
- Fournir un des éléments du dossier d'entrée dans la démarche d'accréditation pour 2013
- Acquérir des connaissances dans le domaine de la validation de méthode

Le laboratoire

- Situé au sein de l'Institut Alfred Fournier, centre de santé spécialisé dans les IST
- Laboratoire polyvalent
- Activité orientée vers les IST
- CNR des gonocoques
- Démarche qualité :
 - Bio Qualité[®] - option B
 - Dossier de qualification pour décembre 2012

Présentation du travail

PDCA – Recommandations du SH GTA 04

Planifier :
(mars-avril)

Moyens mis en œuvre (5M)

Rédaction de la procédure

Recherche bibliographique

Détermination des critères de performance à évaluer et des limites d'acceptabilité

Réaliser :
(mai-juin)

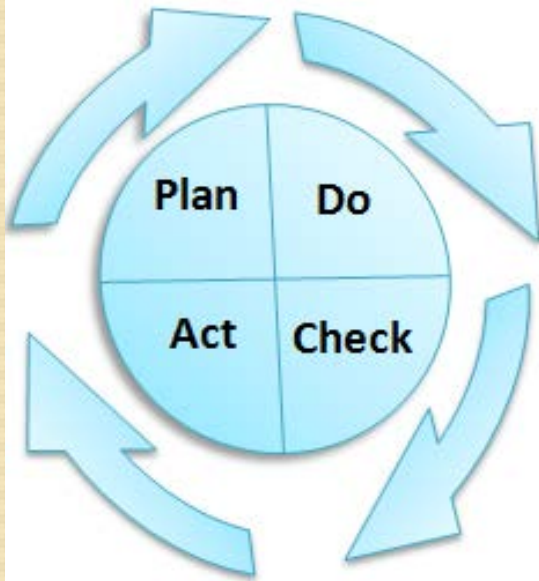
Vérification expérimentale

Evaluer :
(juin)

Analyse des résultats

Ajuster :

Conclusion - Perspectives



Descriptif de la méthode

- Aptima Combo 2[®] (Gen-Probe[®])
- Détection combinée d'ARNr de *C. trachomatis* (CT) et *N. gonorrhoeae* (GC) par amplification sur l'automate Panther[®]
- Echantillons d'urines, prélèvements cervico-vaginaux, auto-prélèvements vaginaux
- Résultats exprimés en RLU et interprétés positif, négatif ou équivoque
- Seuil fixe défini par le fournisseur:

Négatif	Equivoque	Positif
1 à 84	85 à 249	250 à 4500

- Méthode quantitative de portée flexible A

Bibliographie

- Evaluations de la sensibilité et de la spécificité de la technique par rapport au statut clinique
- Comparaisons de sensibilité et de spécificité vis-à-vis d'autres techniques

➡ bonnes performances de la technique

- Pas de recommandations ni de données de sociétés savantes pour évaluer la répétabilité, la fidélité intermédiaire

➡ seule source disponible : données du fournisseur
(notice technique)

➡ utilisées pour établir les limites d'acceptabilité

Paramètres évalués

- Répétabilité
- Fidélité intermédiaire
- Justesse et incertitude de mesure
- Contamination entre échantillons
- Comparaison avec la méthode déjà utilisée

Répétabilité

		Laboratoire	Fournisseur
<u>Répétabilité</u> échantillonnage		1 série 15 dosages	2éch. x 2/j 24j 96 dosages
Panel A (négatif)	moyenne (RLU)	6,5 (5-10)	6
	E.T.	1,46	1,02
	C.V.%	22	15,7
Panel D (positif CT et GC)	moyenne (RLU)	2283 (2062-2387)	2456
	E.T.	88,4	52,99
	C.V.%	3,87	2,2

Au regard de la pertinence clinique, le test a été validé.

fidélité intermédiaire

		Laboratoire	Fournisseur
<u>Fidélité intermédiaire</u> Échantillonnage		1 dosage/jour 15 dosages	2éch. x 2/j 24j 96 dosages
Panel A (négatif)	moyenne (RLU)	7,5 (4-15)	6
	E.T.	3,15	0
	C.V.%	43,02	0 / 29,26*
Panel D (positif CT et GC)	moyenne (RLU)	2185 (2046-2331)	2456
	E.T.	87,02	0
	C.V.%	3,98	0 / 5,15*

*calcul effectué à l'aide de la formule : CV reproductibilité = 1,33 x CV répétabilité :
 CV panel A =29,26% CV panel D= 5,15%

Au regard de la pertinence clinique, le test a été validé.

Justesse et incertitude de mesure

- Pas de matériel de référence certifié
- évaluation par des comparaisons inter-laboratoires
 - ➔ abonnement à un programme d'EEQ
- Incertitude de mesure :
 - ➔ Diagramme d'ISHIKAWA
 - ➔ Analyse de risque

Contamination entre échantillons

- Technique d'amplification d'acides nucléiques sensible à la contamination
- Méthodologie :
 - 3 dosages panel D + 3 dosages panel A
 - répétés 4 fois

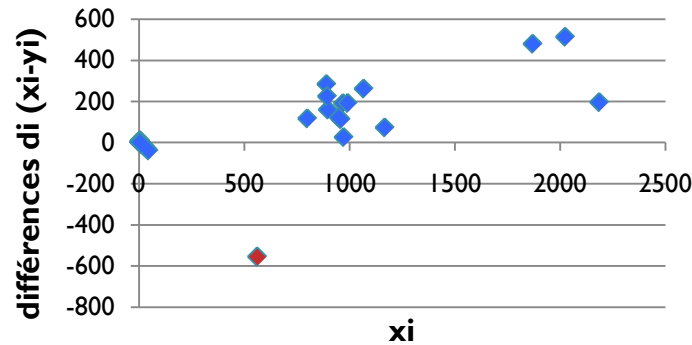
% contamination : -0,055

Conclusion : absence de contamination

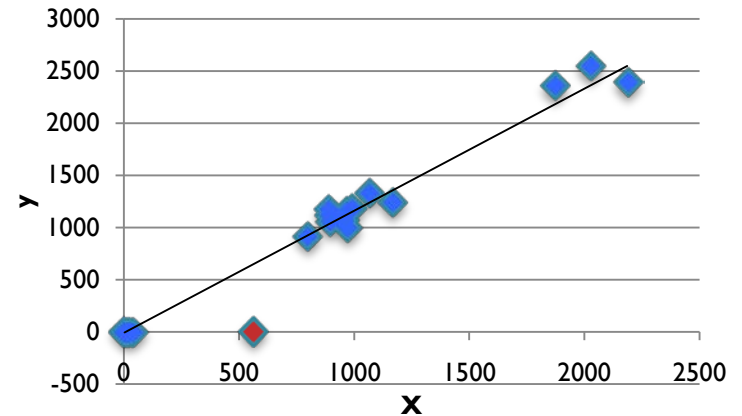
Comparaison avec la technique déjà utilisée (technique Aptima Combo 2[®] semi-automatique)

70 échantillons

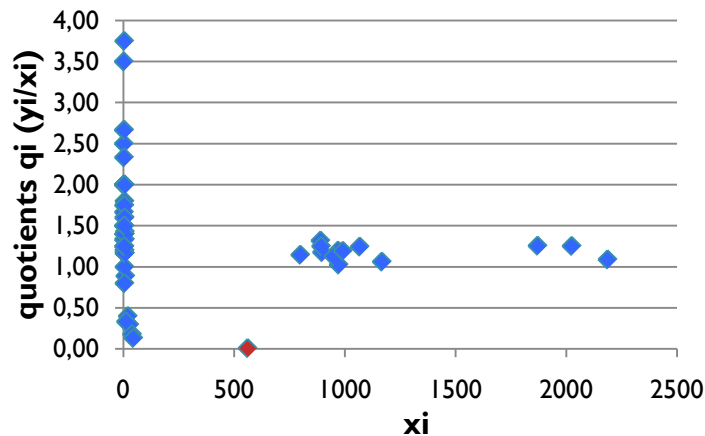
graphe des differences



droite de regression



graphe des quotients



Les deux techniques sont comparables

Conclusion - Perspectives

- Bonnes performances de la méthode
- Amélioration des connaissances
- Difficultés rencontrées:
 - Faible échantillonnage (coût réactif, durée de la technique)
 - Absence de données autres que celles du fournisseur
 - Différence de méthodologie
- ➔ difficultés pour établir les limites d'acceptabilité et comparer les données
- Autres vérifications de méthodes programmées avant la fin de l'année



Merci de votre attention