

# CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE DE NANTES

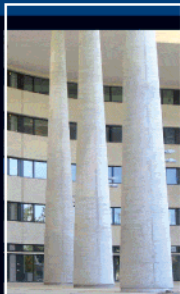
Vérification de méthode quantitative portée A:

Charges virales: VHC, VHB, VIH-1



Hôtel-Dieu

Hôpital mère-enfant



Hôpital Saint-Jacques

Maison Pirmil



Hôpital Laënnec



La Seilleraye

Beauséjour



La Placelière

# Plan

---

- Présentation du laboratoire
- Objectifs
- Rappels
- Méthodologie
- Résultats - interprétation
- Conclusion

# Laboratoire de Biologie Médicale – CHU Nantes

---

- Laboratoire de Biologie Médicale regroupant différents services:

- Activités de biologie médicale
- Activités transversales

- Organisation qualité:

- Un référent qualité dans chaque service au minimum
- Un responsable qualité au niveau du laboratoire
- Groupe qualité, avec sous-groupes de travail (métrologie, indicateurs, validation de méthode)

-Accréditation

- Visite initiale en novembre 2013
- Demande d'extension en juillet 2014

# Objectifs

- Présentation des charges virales: HIV-1, VHC, VHB (nouvelle portée) pour le service de virologie
- Préparation des dossiers de vérification de méthode pour ces 3 paramètres (exigence § 5.5.1.2 norme ISO 15189)
- Présentation de marqueurs en sérologie infectieuse

# Rappel sur les charges virales

- Détermination de la concentration d'acide nucléique viral par PCR
- Intérêt dans le cadre des infections chroniques (VIH, VHB, VHC): suivi des patients et de l'efficacité du traitement

# Principe de mesure

Sang total => décantation Plasma



1 automate Extraction Ampliprep  
Addition du contrôle interne (QS)

2 taqMan48  
Amplification/Quantification  
4 thermocycleurs

# Méthodologie

- Démarche PDCA
  - Plan: préparation du plan d'expérience
  - Do: réalisation des analyses
  - Check:
    - rédaction des rapports de validation
    - Préparation d'un audit interne paillasse
  - Act: mise en œuvre des actions suite aux remarques d'audit

# Méthodologie

- Définition des critères vérifiés:
  - Répétabilité
  - Reproductibilité
  - Exactitude
  - Incertitudes de mesure
  - Contamination inter-échantillon (réalisée en même temps que la répétabilité)
  - Comparaison intra et inter-automate:
    - Contrôles positifs pour intra-automate
    - Inter-automate: échantillons plasma dilués (test effets de bords)

# Méthodologie

- Plan d'expérience

| Examen              | Nature du spécimen | Type de méthode<br><i>qualitatif / quantitatif</i> | Portée<br><i>A/B</i> | Type de validation<br><i>rétrospective / initiale / partielle</i> | Service<br><i>code UF</i> | Référence du réactif |
|---------------------|--------------------|--|----------------------|---|---------------------------|----------------------|
| Charge virale VIH-1 | Plasma             | Quantitatif  | A                    | Validation/Vérification rétrospective                             | 9115                      | 5212294190           |

| Automates        | Technicien (s)<br>responsable (s) | Biologiste (s)<br>responsable (s) | Planification |             | Répétabilité       |                   |                      |                          |
|------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|---------------|-------------|--------------------|-------------------|----------------------|--------------------------|
|                  |                                   |                                   | Date de début | Date de fin | Type d'échantillon | Nombre de mesures | Période / Conditions | Critères d'acceptabilité |
| AmpliPrep/TaQman | T. Pineau                         | E. André                          | 10/02/2014    | 07/03/2014  | contrôle           | 12                | fev-2014             | CV < 10 %                |

# Résultats

- Répétabilité
  - 12 mesures sur CIQ faible et fort (passés en alternance: test de contamination inter-échantillon)
  - 20 mesures sur échantillon patient
  - Résultats en log / ml
- Résultats
  - Coefficient variation  $< 10 \%$  (valeur max: 3,6 % pour VIH-1 – échantillon patient)
  - Ecart-type  $< 0,5 \text{ log /ml}$  (valeur max: 0,15 log/ml)
  - Absence de contamination inter-échantillon

# Résultats

- Reproductibilité (étude rétrospective)
  - 20 mesures sur CIQ faible et fort
- Résultats
  - Coefficient variation  $< 10 \%$  (valeur max: 5,3 % pour VHB)
  - Ecart-type  $< 0,5 \text{ log /ml}$  (valeur max: 0,12 log/ml pour le VIH-1)

# Résultats

- Exactitude
  - Données issues du programme EEQ (QCMD)
  - Exploitation des données de 2014
- Résultats
  - 7 échantillons par marqueur
  - Biais  $< 0,5$  log /ml par rapport au groupe de pairs (méthode automatisées) (biais max: 0,38 log/ml pour VHC)
  - Biais  $< 0,5$  log /ml par rapport moyenne générale (biais max: 0,38 log/ml pour VHC)

# Résultats

- Incertitudes de mesure
  - Utilisation des données de reproductibilité et d'exactitude
  - Définition de 2 niveaux (2,5 log/ml et 6 log/ml)
- Résultats
  - Incertitude  $< 0,5$  log/ml (incertitude maximale 2,68 +/- 0,43 log/ml pour VIH-1)

# Résultats

- Comparaison thermocycleurs d'un même TaqMan
  - Données du CIQ faible passé sur chaque thermocycleur
- Résultats
  - Différence entre les résultats de chaque thermocycleur:  $< 0,5 \text{ log/ml}$
  - Rapport ( $X_i/Y_i$ ) compris entre 90 % et 110 %

# Résultats

- Comparaison des 2 TaqMan
  - Echantillon patient à charge élevée, dilué dans du plasma (VIH, VHB, VHC) négatif : 20 échantillons dilués
  - Passage de 10 échantillons sur chaque TaqMan
- Résultats
  - Différence entre les résultats de chaque thermocycleur:  $< 0,5 \text{ log/ml}$
  - Coefficient de variation  $< 10 \%$  pour chaque thermocycleur
  - Rapport ( $X_i/Y_i$ ) compris entre  $90 \%$  et  $120 \%$

# Conclusion

- Méthodes répétables, reproductibles et exactes. Pas de différence entre les 2 automates de PCR
- Rapports de vérification de méthode formalisés (type SH-FORM-43)
- Analyse de risque (mise en place CIQ indépendant)
- Optimisation du nombre d'essais (coût élevé de la technique)
- Implication dans la démarche qualité du laboratoire
- Audit interne prévu fin octobre