



RAPPORT D'ESSAI D'APTITUDE : n°212 **EEQ : Hépatites - HIV**

Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique
Association déclarée à la Préfecture de la Haute-Garonne le 30 Octobre 1973
et enregistrée sous le n° W313002633
CTCB - 33 route de Bayonne - 31300 TOULOUSE
☎ : 05 34 51 49 80 – Fax : 01 57 67 25 90
Email : secretariat@ctcb.com – site Internet : www.ctcb.com
Siret : 428 789 853 000 28 – APE : 8559A



Ce rapport et son annexe ne peuvent pas être utilisés par leurs destinataires en vue de publication sans un accord écrit préalable du CTCB. Un adhérent peut cependant fournir un exemplaire du rapport à un fournisseur lors d'un problème pouvant relever de la réactovigilance mais en lui rappelant les règles de confidentialité.

Intervenant expert	Coordonnateur des programmes	Vérification du contenu scientifique et autorisation du rapport d'essai d'aptitude
Dr M. MIEDOUGE <i>PTI Virologie (IFB Purpan)</i> miedouge.m@chu-toulouse.fr	Dr S. ALBAREDE <i>Pharmacien Biologiste</i> biologie@ctcb.com	

DOCUMENTATION

Le rapport d'essai d'aptitude comporte les éléments suivants :

- Une partie commune pour tous les laboratoires (rapport, annexe I, annexe II et annexe III) :
 - ✓ Commentaire éventuel sur les réponses des participants
 - ✓ Pages explicatives : présentation du programme, du traitement statistique et position du laboratoire
 - ✓ Exploitation statistique
- Une partie propre à chaque laboratoire «Résultats individuels» en annexe IV (format PDF/EXCEL) :
 - ✓ Historique des participations (résultats, notations)
 - ✓ Résultats du laboratoire
 - ✓ Evaluation de la performance du laboratoire

SOMMAIRE

1. Commentaires de l'intervenant expert	page 2
2. Présentation du programme	page 5
3. Déroulement du traitement statistique qualitatif	page 5
4. Déroulement du traitement statistique quantitatif	page 5
5. Détermination de la notation du laboratoire	page 6
6. Consignes de saisie des résultats	page 7
7. Interprétation de l'évaluation	page 7

Annexe I : Traitements statistiques qualitatifs

Annexe II : Traitements statistiques quantitatifs conservés après analyse

Annexe III : Traitements statistiques quantitatifs initiaux

Annexe IV : Résultats individuels

1. COMMENTAIRES DE L'INTERVENANT EXPERT

1. Sérum HAV : 2121

Résultats cohérents en accord avec la réponse attendue : absence d'IgG et d'IgM.

Quelques résultats douteux avec certaines trouses : notés « B acceptable » car homogènes dans le groupe de pairs correspondants.

2. Sérum HBV dépistage : 2122

Ce sérum a été préparé en surchargeant un sérum négatif pour les marqueurs HBV (donneur de sang, EFS) avec le standard international suivant :



Medicines & Healthcare products
Regulatory Agency

**WHO International Standard
Third International Standard for HBsAg (HBV genotype B4,
HBsAg subtypes ayw1/adw2)
NIBSC code: 12/226
Instructions for use
(Version 2.0, Dated 30/01/2017)**

1. INTENDED USE

This preparation contains inactivated HBsAg (HBV genotype B4, HBsAg subtypes ayw1/adw2) and has been calibrated in International Units (IU) in an international collaborative study (1). It was calibrated against the 2nd international standard (IS) for HBsAg (A2, adw2) along with additional study samples representing different HBV genotypes. The 3rd WHO IS for HBsAg is intended to be used for the determination of analytical sensitivity of HBsAg assays and for the calibration of secondary references for HBsAg.

La concentration finale cible correspond à la limite de détection exigée pour le marquage CE de ce marqueur : soit 0,130 UI/mL.

Dans le cadre de la validation de la stabilité des échantillons préparés, nous avons obtenu les résultats suivants avec les trouses ALINITY, Abbott :

- dépistage AgHBs : POSITIF, ratio 7,1 pour un seuil à 1.
- AgHBs quantitatif : POSITIF, 0,19 UI/mL pour un seuil à 0,05.
- AchBs et AchBc négatifs.

Résultats des participants :

• **Dépistage AgHBs :**

- 98% de résultats positifs : les exigences du marquage CE sont donc largement atteintes.
- quelques Négatifs : notés « D » car discordants par rapport au groupe de pairs et manifestement erronés.
- quelques résultats Douteux : 7 participants ont répondu « Douteux » alors que le signal indiquait clairement une positivité. Compte tenu de la possibilité de faire une séro-neutralisation ces résultats auraient dû être rendus POSITIFS mais certains laboratoires n'ont pas pu réaliser cette confirmation. Nous avons donc noté « C : à analyser par le laboratoire » ces réponses douteuses.

- **Quantification AgHBs :**

On note encore des erreurs de saisie par confusion entre trousse qualitative et quantitative +++.

Ainsi seuls les résultats des trousse ABBOTT et DIASORIN ont pu être exploités et les moyennes obtenues sont très proches de la valeur attendue : 0,2 et 0,18 respectivement pour ces 2 trousse.

- **AcHBs et AchBc :**

Résultats majoritairement « Négatifs » en accord avec la valeur attendue.

- **Conclusion :**

Ce profil (AgHBs isolé) est typique de patients qui viennent d'être vaccinés et chez lesquels on peut détecter l'antigène vaccinal pendant quelques jours. Bien entendu sur une prescription non pertinente !!!

L'autre situation beaucoup plus rare qui doit être envisagée en l'absence de vaccination est une infection aigue vue très précocement : les IgM anti-HBc et l'ADN viral permettront le diagnostic.

3. Sérum HBV complémentaire: 2123

Pas de commentaires particuliers.

Résultats cohérents en accord avec la réponse attendue : présence des anti-HBe.

4. Sérum HIV HCV : 2124

Ce sérum a été préparé en diluant au 1/1500 le sérum d'un patient porteur du HIV-2 et au 1/200 un pool de sérums positifs en HCV.

Les tests de stabilité ont été réalisés avec les trousse Abbott Alinity HIV et HCV : ratios moyens à 16,2 et 4,1 respectivement pour un seuil de positivité à 1.

- **Analyse des résultats HIV :**

Globalement la grande majorité des trousse de dépistage conduisent aux résultats attendus avec 97% de résultats positifs. L'analyse détaillée des résultats met en évidence 2 types de trousse :

-Trousse avec 100% de résultats POSITIFS :

18 trousse rentrent dans cette catégorie. On y retrouve notamment les trousse automatisées avec des ratios moyens très largement au-dessus des seuils de positivité.

La trousse ORTHO-Vitros rentre dans cette catégorie : la réponse négative étant une erreur manifeste.

-Trousse avec 100% de résultats NEGATIFS :

On retrouve ici quatre trousse correspondant à des tests « rapides » :

ABBOTT – Determine HIV Ultra

ALERE – Determine HIV 1/2

BIOLYTICAL – INSTI VIH 1/2

BIORAD – Génie Fast HIV 1/2

Ces résultats objectivent clairement une moindre sensibilité pour ces trousse. Cependant les exigences de marquage CE s'appliquent uniquement à l'antigène p24 et pour ce qui est des anticorps l'exigence en terme de sensibilité diagnostique porte sur des patients en phase chronique donc avec des titres a priori plus élevés que dans le sérum proposé.

Nous avons donc noté « C » ces résultats, à charge au laboratoire d'évaluer la pertinence de ces tests dans sa pratique courante. **De plus, les tests ALERE – Determine HIV 1/2, BIOLYTICAL – INSTI VIH 1/2 et BIORAD – Génie Fast HIV 1/2 ne peuvent pas être utilisés dans des laboratoires de biologie médicale car ce ne sont pas des tests combinés (ils ne détectent pas l'antigène p24).**

- **Analyse des résultats HCV :**

Positivité retrouvée dans 99% des participants.

A noter les CV assez élevés avec les trousse ABBOTT qui s'expliquent très certainement par des erreurs de saisie dans les références : les trousse de dernière génération ont des ratios discrètement plus élevés ce qui se retrouve dans les moyennes observées. De ce fait, les analyses statistiques et les évaluations par Score Z des 4 réactifs ABBOTT ne sont pas rendues.

5. Sérum HEV : 2125

IgG :

Réponses cohérentes : 22 / 25 réponses POSITIVES.

Trois erreurs manifestes notées « D » compte tenu des résultats globaux et par groupe de pairs.

A titre indicatif nous avons obtenu des titres de l'ordre de 1,3 UI/mL lors des tests de stabilité avec la trousse WANTAI adaptée en interne : tout à fait cohérent avec la moyenne obtenue avec la trousse standardisée VIDAS (1,7 UI/mL).

IgM:

Pas de commentaires particuliers.

Résultats cohérents en accord avec la réponse attendue : absence d'IgM.

6. Sérum HDV* : 2126

Pas de commentaires particuliers.

Résultats cohérents en accord avec la réponse attendue : sérologie négative.

PS : Ces documents doivent être archivés selon la réglementation en vigueur.

Pour tout renseignement :

COORDONNATEUR / BIOLOGISTE	Stéphanie ALBAREDE	Tél. : 05.34.51.49.84 biologie@ctcb.com
ADMINISTRATIF	Marie-Christine ONDERBEKE Luana SALVATI Aurélie ONDERBEKE	Tél. : 05.34.51.49.80 secretariat@ctcb.com
TECHNIQUE	Delphine GARIMBAY Fabrice ZENNAF	Tél. : 05.34.51.49.81 Tél. : 05.34.51.44.11 technique@ctcb.com
QUALITE	Erick SANCHEZ	Tél. : 05.34.51.49.82 qualite@ctcb.com
INFORMATIQUE	Nicolas BODEAU Philippe GONZALVO	Tél. : 05.34.51.44.10 Tél. : 06.84.79.34.89 informatique@ctcb.com

2. PRESENTATION DU PROGRAMME

> Présentation du programme et des produits de contrôle utilisés :

En début de campagne, chaque laboratoire reçoit un nombre d'échantillons en adéquation avec son inscription qu'il stocke au congélateur à -20°C (sérum conditionnés en tube plastique). Quatre fois dans l'année, le laboratoire est averti des analyses à réaliser sur les sérum :

- Sérum HAV : anticorps IgG (ou totaux) et IgM
- Sérum HBV dépistage : antigène HBs, anticorps anti-HBs, anticorps anti-HBc IgG (ou totaux).
- Sérum HBV complémentaire : antigène HBe, anticorps anti-HBe, anticorps anti-HBc IgM.
- Sérum HIV-HCV: dépistage HIV et HCV.
- **M** Sérum HEV : anticorps IgG et IgM
- **M** Sérum HDV* : anticorps IgG (ou totaux)

M : Programme géré par le CTCB et mutualisé avec l'association biologie prospective (BP).

> Préparation des objets soumis à l'essai :

Les échantillons sont préparés et testés par notre sous-traitant : PTI Virologie (IFB Purpan), CHU Toulouse selon les modalités internes (procédures et modes opératoires).

Les échantillons sont ensuite acheminés au CTCB pour l'emballage et l'expédition. Tous les essais réalisés par le laboratoire sous-traitant permettent de :

- vérifier l'homogénéité des échantillons au sein d'un même lot,
- vérifier la stabilité des échantillons afin de garantir qu'ils ne subiront pas de modifications significatives tout au long de l'essai,
- déterminer les résultats attendus qualitatifs.

3. DEROULEMENT DU TRAITEMENT STATISTIQUE QUALITATIF

Le traitement statistique qualitatif est réalisé selon le protocole suivant :

Type de traitement statistique	Règles de sélection des données
« Toute technique »	Aucune sélection particulière. → Traitement statistique réalisé avec l'ensemble des données.
« Par réactif »	→ Traitement statistique réalisé avec les données des laboratoires utilisant le même réactif.

4. DEROULEMENT DU TRAITEMENT STATISTIQUE QUANTITATIF

Un traitement statistique quantitatif est réalisé selon le protocole suivant :

Type de traitement statistique	Règles de sélection des données
« Par réactif »	→ Traitement statistique réalisé avec les données des laboratoires utilisant le même réactif.

Le protocole utilisé par le CTCB pour réaliser le traitement statistique et l'évaluation des résultats quantitatifs est décrit dans la procédure « **PR.AAND.022** Plan statistique quantitatif et évaluation des performances selon la norme NF ISO 13528 » (téléchargeable [en cliquant ici](#)).

En synthèse :

- Elimination des valeurs aberrantes par une méthode utilisant la médiane (Med) et l'écart absolu médian pondéré (MADe). Ce sont des estimateurs simples de positionnement, adapté quel que soit le jeu de données et non dépendant des valeurs extrêmes. Les valeurs sont gardées ou exclues en fonction de l'intervalle :

$$\text{Med} - a \cdot \text{MADe} < x_i < \text{Med} + a \cdot \text{MADe}$$

a = coefficient ajusté par le CTCB à partir de son expérience des données antérieures

- Détermination des paramètres robustes à partir des valeurs restantes en appliquant l'Algorithme A décrit dans la norme NF ISO 13528 si l'effectif reste ≥ 7 après troncature :

x^* = moyenne robuste (**Moy r**)

s^* = écart-type robuste (**ET r**)

Un échantillon de petite taille implique une faiblesse dans la puissance statistique.

Le risque principal provient de la variabilité totale non représentée. De ce fait, la moyenne robuste sur laquelle repose votre évaluation peut ne pas être représentative.

Critères complémentaires de rendus des résultats :

- Exclusion des réactifs si le CV > 20 % et seuils inhomogènes (seuil variable selon les participants)
- Exclusion des réactifs si des valeurs sont supérieures aux limites hautes de quantification dans les cas suivants :
 - o Si la majorité des laboratoires du groupe de pair a rendu un résultat « \geq à »
 - o Ou si une minorité des laboratoires a rendu des valeurs « \geq » mais ces valeurs ne sont pas aberrantes c'est à dire que la limite de quantification est \leq Moy r + 3 ET r

5. DETERMINATION DE LA NOTATION DU LABORATOIRE

Le CTCB utilise deux systèmes de notation :

Notation des résultats qualitatifs

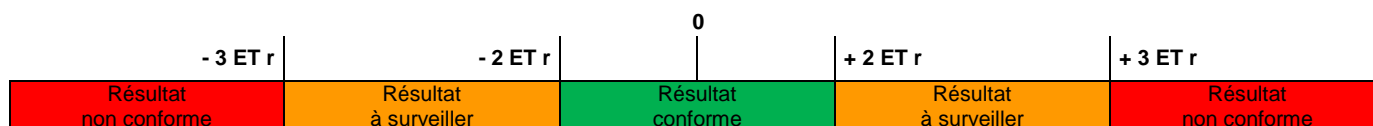
Le système de notation qualitatif repose sur l'échelle d'évaluation suivante :

- A = Résultat conforme
- B = Résultat acceptable
- C = Résultat à analyser par le laboratoire
- D = Résultat non conforme

Le résultat attendu est la valeur transmise par l'expert selon le protocole qu'il a défini. Cette valeur est confirmée après l'exploitation des résultats des adhérents : elle devient alors la valeur assignée.

Notation des résultats quantitatifs en fonction de l'écart type robuste (uniquement pour les marqueurs POSITIFS)

La position du laboratoire est déterminée en fonction de l'écart entre le résultat du laboratoire et la moyenne robuste calculée «Par Réactif».



Chaque lettre est suivie d'un + ou d'un - suivant que le résultat du laboratoire est supérieur ou inférieur à la moyenne.

Le **Score Z / Score Z'** exprime le nombre "d'écarts types" pour lequel le résultat du laboratoire s'écarte au-dessus ou au-dessous de la moyenne vraie de la population. Le signe positif du **Score Z / Score Z'** signale un laboratoire qui a tendance à majorer son résultat, et inversement le signe négatif signale un laboratoire qui a tendance à minorer son résultat.

$$\text{Score Z} = \frac{(x - x^*)}{s^*} \qquad \text{Score Z}' = \frac{(x - x^*)}{\sqrt{[(s^*)^2 + (u_{(x^*)})^2]}}$$

avec x = résultat du laboratoire x^* = moyenne robuste (**Moy r**)
 s^* = écart-type robuste (**ET r**) $u_{(x^*)}$ = l'incertitude-type de la moyenne robuste (**u** (**Moy r**))

Le CTCB détermine l'incertitude-type de la moyenne robuste et si cette dernière est jugée non négligeable alors nous utilisons le **Score Z'** pour évaluer la performance des laboratoires. Le **Score Z'** prend en compte l'incertitude-type et a pour conséquence d'élargir le dénominateur du score de performance. La valeur du **Score Z'** est donc inférieure ou égale à la valeur du **Score Z**.

Le protocole utilisé par le CTCB pour réaliser l'évaluation des résultats quantitatifs est décrit dans la procédure « **PR.AAND.022** Plan statistique quantitatif et évaluation des performances selon la norme NF ISO 13528 » (téléchargeable [en cliquant ici](#)).

Les moyennes robustes sont déterminées à partir des résultats fournis par l'ensemble des participants utilisant le même réactif. Avec cette approche, la valeur assignée est la valeur consensuelle des laboratoires participants.

NOTE : Pour faciliter l'évaluation par le laboratoire de son incertitude de mesure, nous vous estimons l'écart (biais) obtenu entre votre résultat et la moyenne robuste :

Biais = $x - x^*$

avec x = résultat du laboratoire x^* = moyenne robuste (**Moy r**)

6. CONSIGNES DE SAISIE DES RESULTATS

1. L'exploitation des données dépend directement de la qualité de la saisie de ces données. Les traitements statistiques permettent de pallier à certaines erreurs de saisie mais malgré tout, certaines données restent inexploitable.

Pour les résultats quantitatifs l'absence de standardisation des résultats en unités internationales constitue une source importante d'hétérogénéité. Selon les réactifs, les résultats sont rendus sous la forme de données brutes, de ratio, d'index, d'indice, d'unités arbitraires. Nous avons pris le parti d'utiliser le terme général de ratio sur nos formulaires de saisie.

Seuls les résultats rendus sous forme relative (correspondant en général au rapport entre le signal obtenu pour l'échantillon et le signal du calibrateur) peuvent être exploités. Corollaire, le seuil de positivité est alors similaire pour un même réactif.

2. Le laboratoire renseigne le codage réactif/équipement/technique/méthode au moment de la saisie de ses résultats sur le site Internet par l'intermédiaire d'une ou plusieurs listes déroulantes. Un codage correct est obligatoire pour réaliser une exploitation statistique pertinente.

La gestion de cette saisie relève de la responsabilité du laboratoire participant, qui en cas de nouveau réactif/équipement/technique/méthode non listé dans notre menu déroulant, doit le préciser dans la zone « **Commentaire** » lors de la saisie Internet et transmettre une copie de la fiche technique (ou de tout autre document justificatif) :

- soit par fax au 01 57 67 25 90
- soit par mail à technique@ctcb.com

7. INTERPRETATION DE L'EVALUATION

L'écart type robuste est utilisé pour évaluer la performance du laboratoire par rapport aux autres laboratoires. De par sa formule, elle est dépendante de la dispersion des résultats et du biais du laboratoire par rapport à la moyenne robuste ($X_{\text{laboratoire}} - X_{\text{assigné}}$) :

- Une technique avec une dispersion élevée **favorise** les laboratoires,
- Une technique avec une dispersion faible **pénalise** les laboratoires.

Le « Score Z / Z' » est déterminé uniquement pour les marqueurs POSITIFS et pour les réactifs non exclus par les critères de validité. Pour l'interprétation des résultats, il est nécessaire de tenir compte des éléments suivants qui peuvent conduire à un « Score Z / Z' » élevé sans conséquence analytique et/ou clinique critique :

- Coefficient de variation obtenu pour votre réactif : s'il est très bas, il peut conduire à un « Score Z / Z' » élevé pour un écart non critique.
- Technique en compétition : le « Score Z / Z' » obtenu en cas de ratios très faible n'est pas pertinent.