

Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Charge virale du VIH : ARN-VIH1

ARN-VIH

10CHV1

mars 2010

Edition : octobre 2010

Muriel Duran CORDOBES et Francis POISSON (Afssaps)
 Christine ROUZIOUX (Hôpital Necker, Paris),
 Valérie POTARD (INSERM U943, Paris),
 Dominique COSTAGLIOLA (INSERM U943, Paris)
 Jean-Christophe PLANTIER (CHU ROUEN)

Expédition	8 mars 2010
Clôture	6 avril 2010
Edition des compte-rendus individuels	26 juillet 2010
Paramètres contrôlés/Echantillons	ARN du virus du VIH 1 - 08-1A ; 08-2A ; 08-3A et 08-4A ou 08-1B ; 08-2B ; 08-3B et 08-4B ou 08-1C ; 08-2C ; 08-3C et 08-4C
Nombre de laboratoires concernés*	127
Nombre de laboratoires participants**	121

* Laboratoires ayant déclaré à l'Afssaps pratiquer les analyses concernées par l'envoi et ayant reçu le colis de l'opération

**Laboratoires ayant retourné un bordereau-réponse correctement identifié par le code laboratoire, avant la date de clôture de l'opération.

Résumé de l'opération

Les objectifs de l'opération de contrôle 10CHV1 étaient :

- l'évaluation des performances des laboratoires pour la quantification **de l'ARN du Virus de l'Immunodéficience Humaine de type 1 (ARN-VIH1)** plasmatique en termes de variabilité inter-laboratoires et intra-laboratoire,
- la comparaison de ces performances entre les protocoles utilisés,

Pour cela, les 127 laboratoires concernés par la quantification de l'ARN-VIH1 ont reçu un panel de 4 échantillons.

Ces panels de 4 échantillons se décomposent comme suit : un échantillon négatif (08-1A, 08-3B, 08-2C), un échantillon positif de niveau 1 (08-4A, 08-2B, 08-1C) et un échantillon positif de niveau 2 présenté en duplicate (08-2A et 08-3A, 08-1B et 08-4B, 08-3C et 08-4C).

Les résultats de cette opération de contrôle sont satisfaisants, on note peu de valeurs aberrantes. Cela a permis une comparaison des résultats entre laboratoires et entre réactifs utilisés. Aucun faux positif n'a été relevé.

On a noté des écarts entre les quantifications obtenues avec le réactif Abbott RealTime HIV et celles obtenues avec tous les autres réactifs pour les niveaux 1 et 2. De même, un écart sur les résultats de charges virales par rapport aux autres réactifs est observé avec le réactif Roche Diag. Cobas TaqMan HIV1 test avec extraction AmpliPrep avec l'échantillon de niveau 2.

Analyse quantitative de l'ARN-VIH1

ARN-VIH1 : échantillons positifs de niveau 1 (08-4A, 08-2B, et 08-1C) et échantillons positifs de niveau 2 (08-2A et 08-3A, 08-1B et 08-4B, 08-3C et 08-4C).

Définition des échantillons

Les échantillons ont été préparés à partir d'un pool de plasma. Ils ont été envoyés sous forme liquide.

Les experts C. Rouzioux et J-C. Plantier ont testé les échantillons de contrôle (tableau I)

tableau I - résultats des experts : échantillons 08-1X, 08-2X, 08-3X et 08-4X

Paramètre ARN VIH1	ROCHE Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test		Abbott RealTime HIV	
	Copies/ml	log	Copies/ml	log
08-1A , -3B, -2C	<50	-	<40	<1,6
08-4A , -2B, -1C	966	2,98	494	2,7
08-2A , -1B, -3C, 08-3A, -4B, -4C	8778	3,94	2833	3,5

Méthode statistique et expression des résultats

L'analyse des résultats quantitatifs de cette opération 2010 du Contrôle National de Qualité a été réalisée conformément à la norme ISO 5725-2, comme pour les 7 opérations précédentes. Rappelons que pour le niveau 2, les laboratoires devaient rendre deux mesures d'ARN-VIH plasmatique, mais une seule pour le niveau 1. L'analyse des résultats quantitatifs se décompose selon plusieurs étapes.

→ Identification des mesures aberrantes et valeurs isolées

L'existence de deux mesures au niveau 2 permet de détecter les laboratoires ayant une moyenne ou une variance soit aberrante soit isolée par rapport aux autres laboratoires, d'après les statistiques de cohérence inter-laboratoires h et intra-laboratoire k. Sur les échantillons du niveau 1, la variabilité intra-laboratoire ne pouvant être étudiée, il est possible de détecter les mesures aberrantes ou isolées en termes de variabilité inter-laboratoires par la statistique de cohérence inter-laboratoires h.

Les valeurs critiques de ces statistiques à 5% et à 1% (caractérisant respectivement les valeurs isolées et les valeurs aberrantes) ont été étudiées. **L'analyse de cohérence n'a été effectuée que sur les données des réactifs ayant au moins 4 résultats rendus.** Les tracés de ces statistiques de cohérence sont respectivement représentés sur les figures 1 à 5 pour chaque réactif. Les valeurs aberrantes sont exclues de la suite de l'analyse statistique, à moins qu'elles puissent être expliquées et donc corrigées. Les valeurs isolées sont conservées dans la suite de l'analyse.

→ Description générale des mesures par réactif

Après exclusion des valeurs détectées comme aberrantes dans l'analyse de cohérence, on peut décrire globalement l'ensemble des mesures pour chaque réactif en termes de moyenne générale et de variance de reproductibilité qui peut être décomposée en variance inter-laboratoires et variance de répétabilité. La variance de répétabilité représente la variance intra-laboratoire due à l'erreur aléatoire. La répétabilité peut être également étudiée en calculant l'écart observé entre deux mesures obtenues au niveau 2 par chaque laboratoire. La variance de reproductibilité exprime la variabilité totale d'une mesure combinant à la fois la variabilité intra-laboratoire et inter-laboratoires.

→ Comparaisons des résultats en fonction du réactif

La comparaison des résultats obtenus en fonction des réactifs a été faite par analyse de variance (Anova). Le test PLSD (Procédure de "least significant difference method") de Fisher a été utilisé pour les comparaisons multiples.

Résultats des participants

1- Réactifs utilisés

Sur les 121 laboratoires ayant donné un résultat, 2 ont rendu des résultats qualitatifs, non pris en compte dans l'étude statistique.

Les réactifs utilisés sont présentés dans le tableau I.

tableau I – réactifs utilisés

Réactifs	Nombre d'utilisateurs	Seuil de quantification
ABBOTT RealTime HIV	38	pour 1 ml : 25 copies/ml - 1,6 log pour 0,6 ml : 39 copies/ml - 1,6 log pour 0,5 ml : 65 copies/ml - 1,88 log pour 0,2 ml : 119 copies/ml - 2,18 log
BIOMERIEUX Nuclisens Easy Q HIV-1 V1.2	1	25 UI/ml
BIOMERIEUX Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0	14	pour 1ml :15 copies/ml pour 0,5ml :50 copies/ml pour 0,1ml :292 copies/ml
ROCHE Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole ultrasensible (Amplicor us)	2	50 copies/ml 1,70 log copies/ml
ROCHE Cobas Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole standard (Cobas ps)	1	400 copies/ml 2,60 log copies/ml
ROCHE Cobas Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole ultrasensible (Cobas us)	1	50 copies/ml 1,70 log copies/ml
ROCHE Cobas TaqMan HIV-1 Test avec High Pure System	14	47 copies/ml 1,67 log copies/ml
ROCHE Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test	5	20 copies/ml 1,30 log copies/ml
ROCHE Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test avec extraction "cobas Ampliprep"	39	20 copies/ml 1,30 log copies/ml
SIEMENS VERSANT® Test HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) sur Analyseur Système 340 bDNA	1	73 copies/ml 1,86 log copies/ml
SIEMENS VERSANT® Test HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) sur Système de biologie moléculaire VERSANT 440	3	71 copies/ml 1,85 log copies/ml

2- Statistiques de cohérence

Les résultats des statistiques de cohérence inter-laboratoire et intra-laboratoire par réactif sont présentés sur les figures 1 à 5.

Figure 1 : Statistiques de cohérence inter-laboratoires k et intra-laboratoire h, par laboratoire, des mesures d'ARN-VIH plasmatique par le réactif *ABBOTT RealTime HIV*

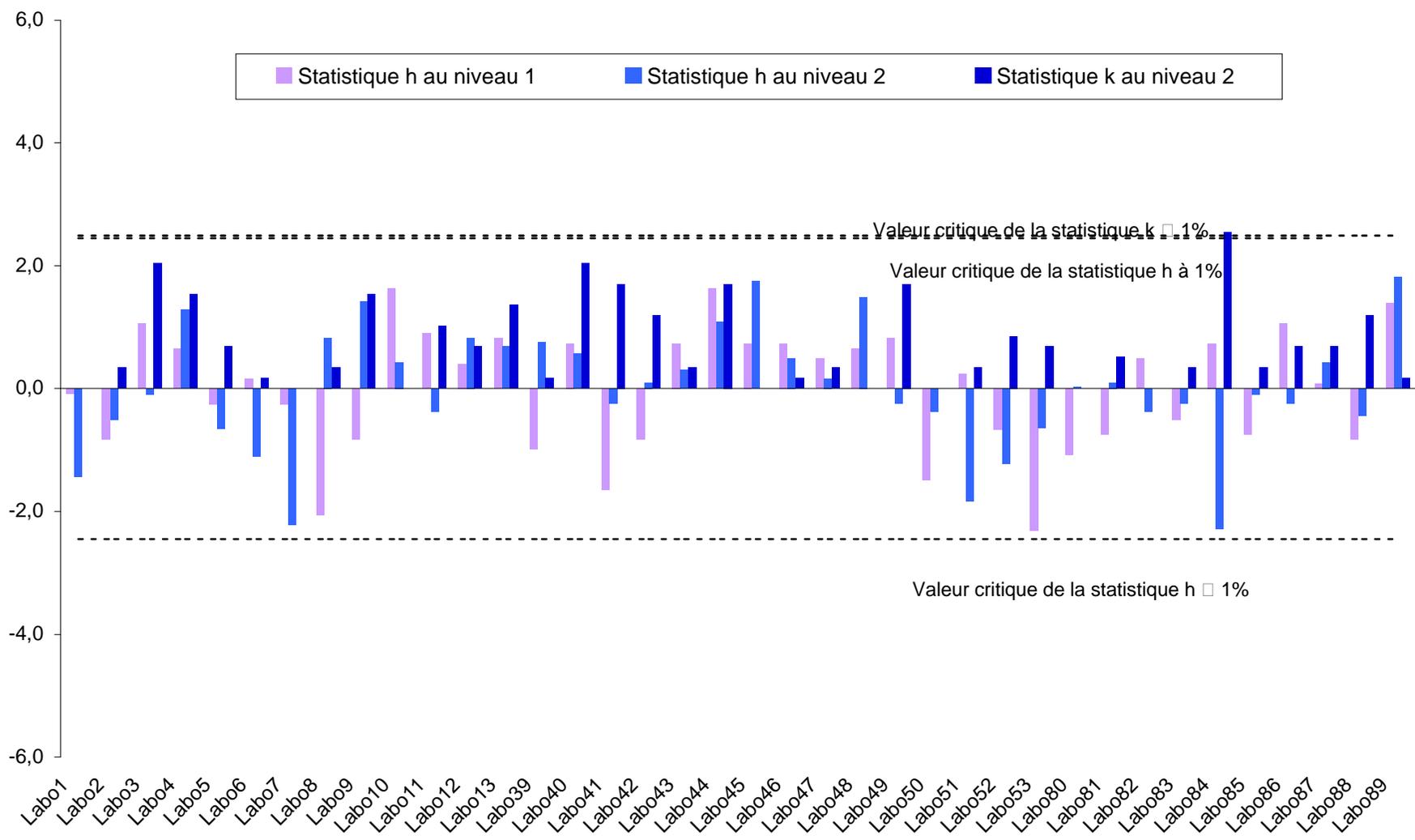


Figure 2: Statistiques de cohérence inter-laboratoires k et intra-laboratoire h, par laboratoire, des mesures d'ARN-VIH plasmatique par le réactif *BIOMERIEUX Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0*

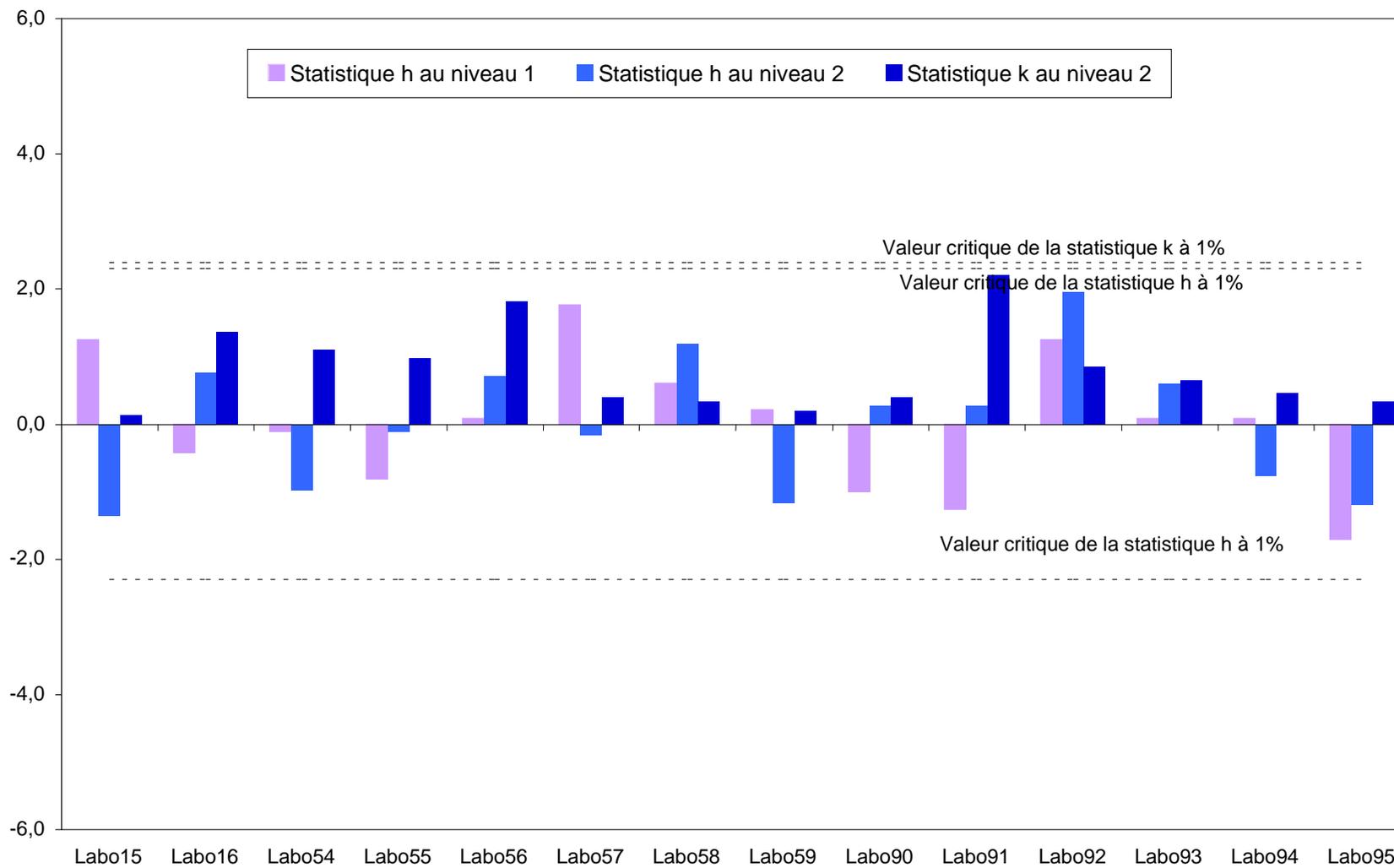


Figure 3: Statistiques de cohérence inter-laboratoires k et intra-laboratoire h, par laboratoire, des mesures d'ARN-VIH plasmatique par le réactif *ROCHE Cobas TaqMan HIV-1 Test avec High Pure System*

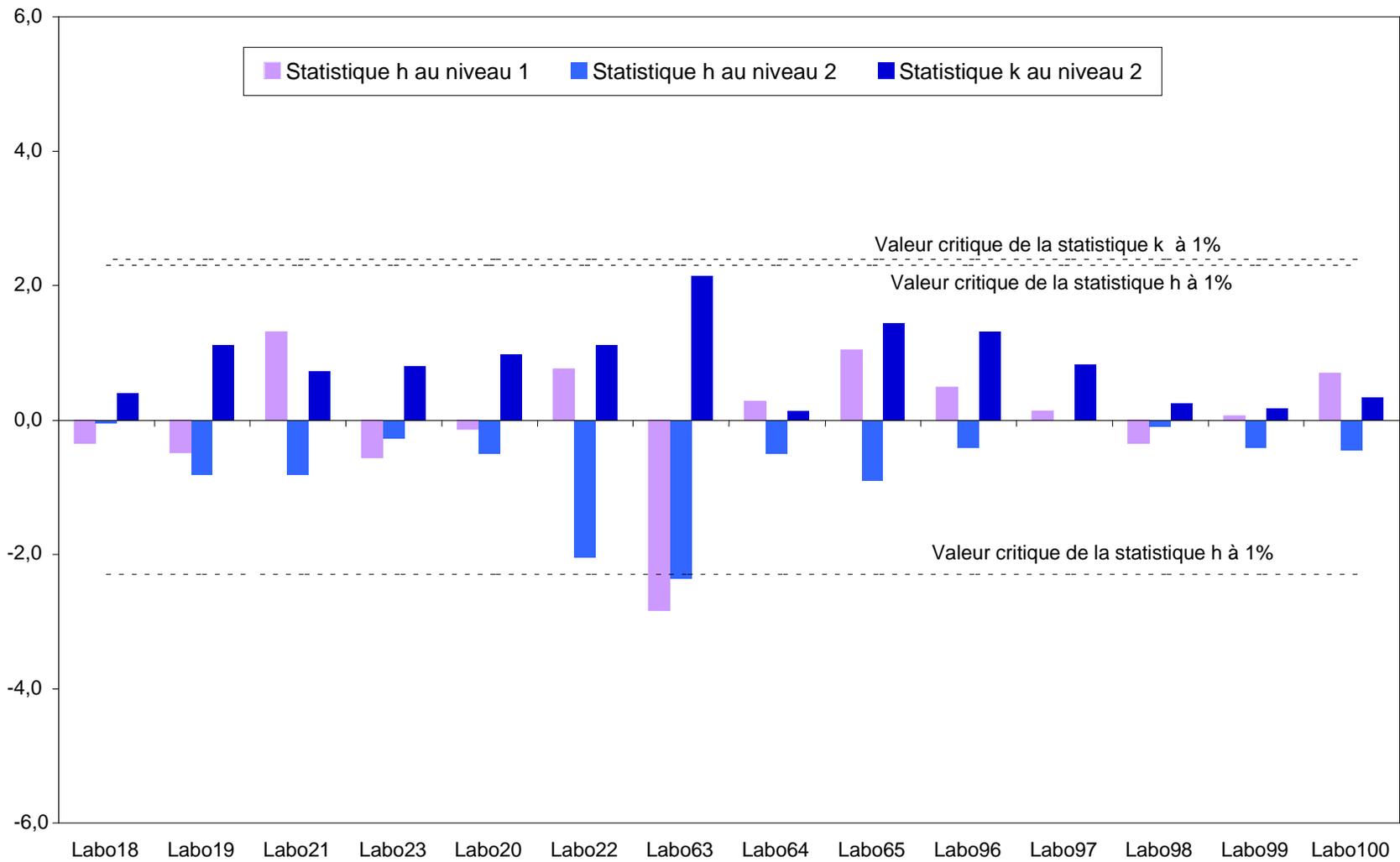


Figure 4: Statistiques de cohérence inter-laboratoires k et intra-laboratoire h, par laboratoire, des mesures d'ARN-VIH plasmatique par le réactif *ROCHE Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test*

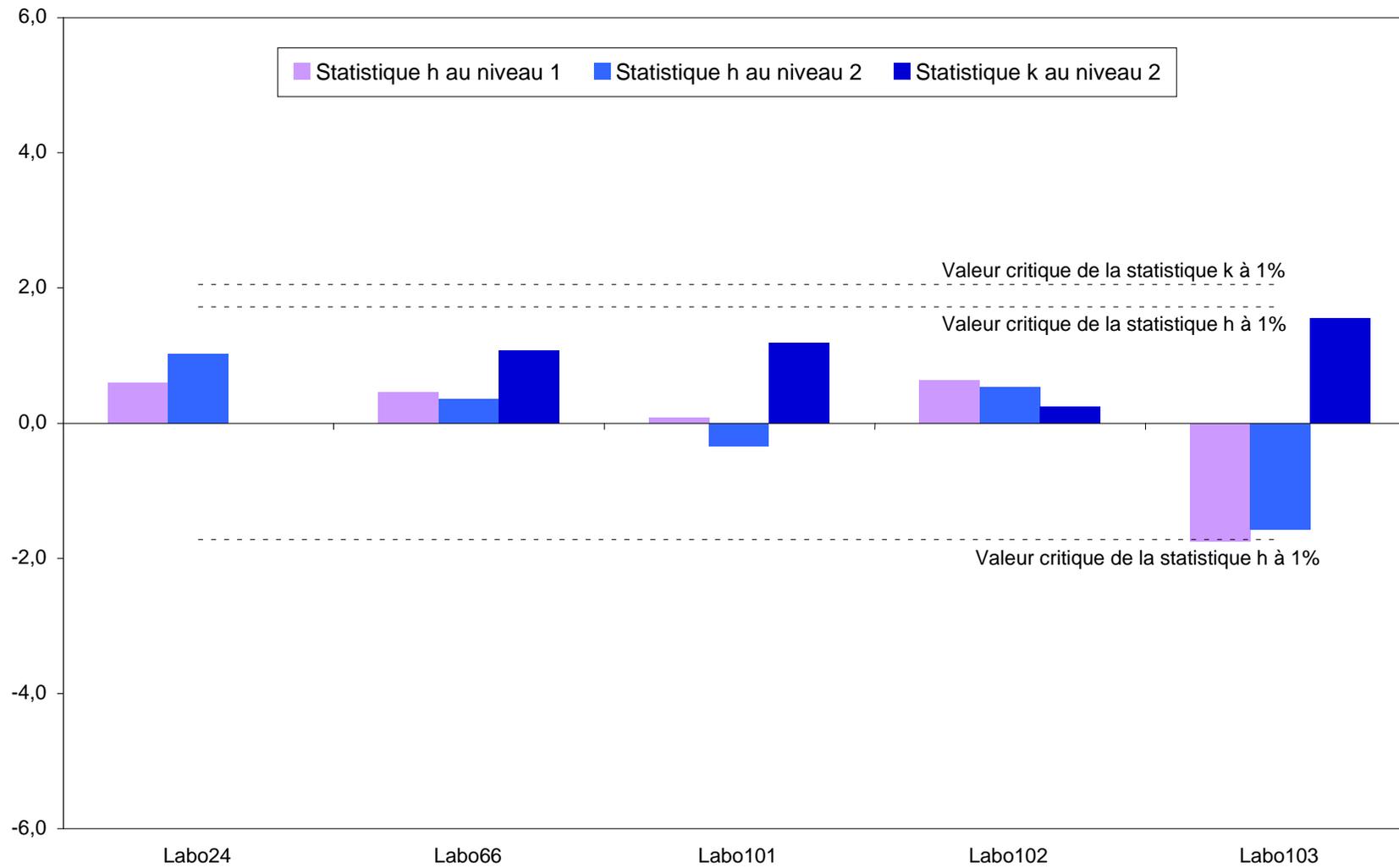
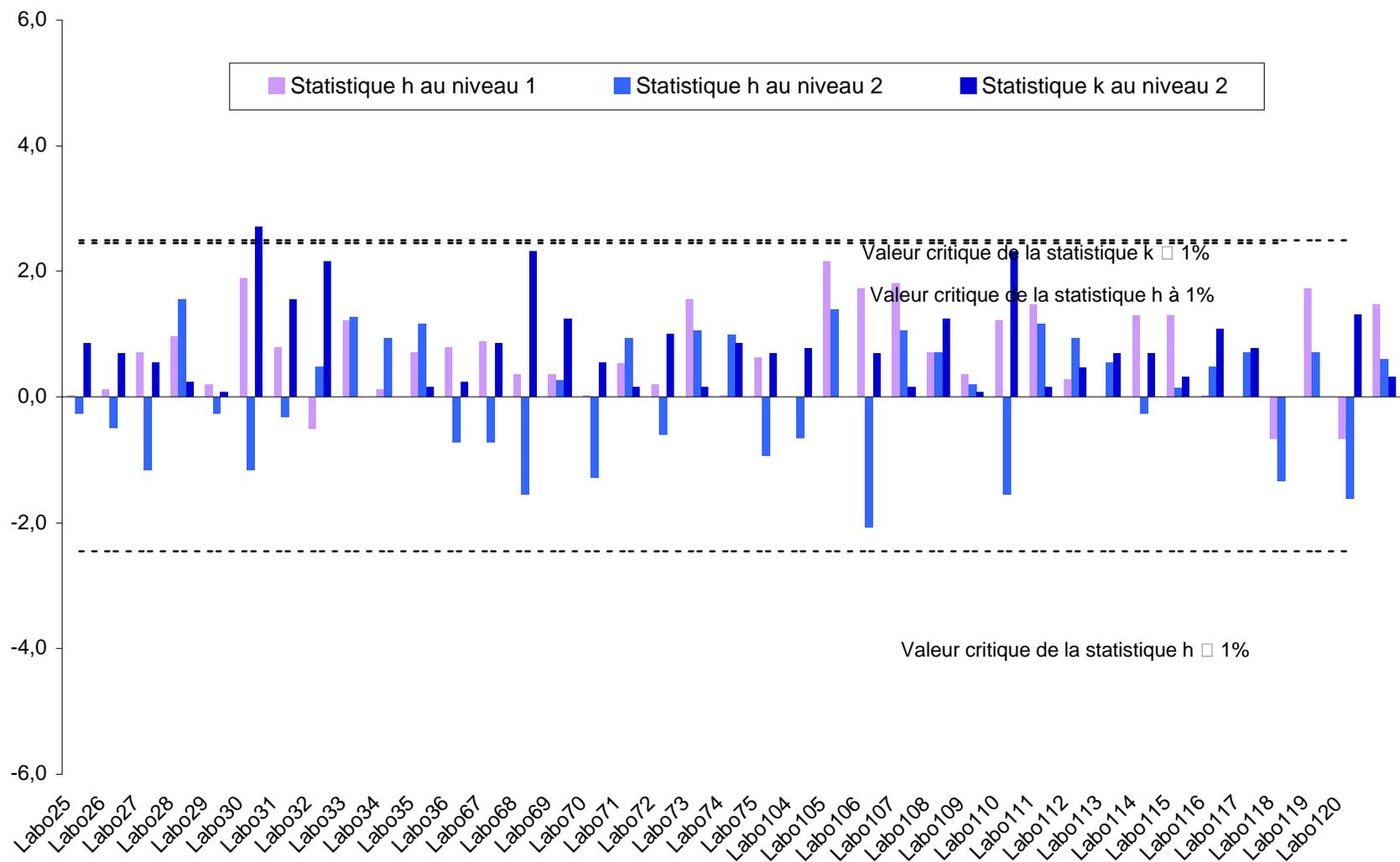


Figure 5 : Statistiques de cohérence inter-laboratoires k et intra-laboratoire h, par laboratoire, des mesures d'ARN-VIH plasmatique par le réactif *ROCHE Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test avec extraction « cobas Ampliprep »*



L'analyse de cohérence effectuée sur les données des réactifs ayant au moins 4 résultats rendus (soit 5 réactifs concernés), a permis de détecter quelques valeurs aberrantes :

- Au niveau 1, l'étude de la statistique inter-laboratoires n'a pas détecté de mesures aberrantes sur les résultats des laboratoires utilisant les réactifs Abbott RealTime HIV, Biomerieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0, Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test avec extraction "cobas Ampliprep".

Seuls 2 laboratoires ont présenté une mesure aberrante due à une valeur anormalement basse pour le réactif Roche Diagnostics Cobas Taq Man HIV-1 test avec High Pure System, ainsi que pour le réactif Roche Diagnostics Cobas Taq Man HIV-1 test 2.0.

- Au niveau 2, aucune mesure n'est caractérisée comme aberrante pour les laboratoires utilisant les réactifs Biomerieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0, Roche Diagnostics Cobas Taq Man HIV-1 test 2.0.

Un laboratoire a présenté une moyenne aberrante due à l'une des 2 mesures anormalement basse avec le réactif Roche Diagnostics Cobas Taq Man HIV-1 test avec High Pure System.

L'analyse de la cohérence a montré 2 laboratoires ayant une variance aberrante due à l'une des 2 mesures anormalement basse avec le réactif Abbott RealTime HIV et Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test avec extraction "cobas Ampliprep".

L'analyse de cohérence a permis également de mettre en évidence des valeurs isolées :

- Au niveau 1, un seul laboratoire a rendu 1 mesure isolée avec le réactif Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test avec extraction "cobas Ampliprep".

- Au niveau 2, on observe 4 moyennes isolées pour 2 laboratoires utilisant Abbott RealTime HIV, et 2 autres laboratoires utilisant le réactif Biomerieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0 et Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test avec extraction "cobas Ampliprep". Trois d'entre eux avait une mesure anormalement basse et un autre avait une mesure anormalement haute. Six laboratoires présentent une variance isolée dont 3 avec le réactif Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test avec extraction "cobas Ampliprep", 2 avec le réactif Abbott RealTime HIV, et un laboratoire avec le réactif Biomerieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0.

Quel que soit le réactif, on constate peu de valeurs aberrantes, ce qui permet une bonne exploitation de ces résultats.

3 – Résultats de l'ensemble des laboratoires par réactif et par niveau

Le tableau II présente les moyennes, valeurs minimum et maximum, et les écarts-types des échantillons des mesures d'ARN-VIH plasmatique en log de copies/ml des laboratoires, selon les réactifs et les niveaux de charge virale choisis.

Nous n'avons pas calculé de moyenne ni d'écart-type pour les réactifs ayant moins de 4 utilisateurs.

tableau II - résultats de l'ensemble des laboratoires par réactif pour le niveau 1 et le niveau 2

Réactif	Niveau	Nbre labos	n	p	n'	m en log copies/ml	Min	Max	S _R	CV (%)	S _r	S _r ² /S _R ² (%)	Ecart (Nv2-Nv1)
ABBOTT RealTime HIV	1	38	38	38	38	2,60	2,32	2,80	0,12	4,7			0,87
	2	38	76	38	75	3,47	3,30	3,62	0,08	2,3	0,04	23,6	
BIOMERIEUX Nuclisens Easy Q HIV-1 V1.2	1	1	1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
	2	1	2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
BIOMERIEUX Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0	1	14	14	14	14	2,99	2,72	3,25	0,16	5,2			0,81
	2	14	28	14	28	3,80	3,62	4,04	0,12	3,2	0,11	82,6	
ROCHE Amplior HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole ultrasensible (Amplior us)	1	2	2	--	--	--	2,63	3,24	--	--	--	--	--
	2	2	4	--	--	--	3,44	4,16	--	--	--	--	--
ROCHE Cobas Amplior HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole standard (Cobas ps)	1	1	1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
	2	1	2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
ROCHE Cobas Amplior HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole ultrasensible (Cobas us)	1	1	1	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
	2	1	2	--	--	--	--	--	--	--	--	--	--
ROCHE Cobas TaqMan HIV-1 Test avec High Pure System	1	14	14	13	13	2,71	2,60	2,87	0,09	3,2			0,81
	2	14	28	14	27	3,52	3,13	3,82	0,14	4,0	0,08	16,8	

ROCHE Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test	1 2	5 5	5 10	4 5	4 10	2,96 3,74	2,80 3,26	3,04 4,01	0,11 0,27	3,7 7,2	0,06	4,9	0,78
ROCHE Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test avec extraction "cobas Ampliprep"	1 2	39 39	36 77	36 38	36 76	2,94 3,89	2,78 3,60	3,11 4,07	0,09 0,10	2,9 2,7	0,08	57,7	0,95
SIEMENS VERSANT® Test HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) sur Analyseur Système 340 bDNA		1 1	1 2	-- --	-- --	-- --	-- --	-- --	-- --	-- --	-- --	-- --	-- --
SIEMENS VERSANT® Test HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) sur Système de biologie moléculaire VERSANT 440	1 2	3 3	3 6	-- --	-- --		2,48 3,40	2,64 3,46					

-- : pas de résultats statistiques du fait du faible nombre de laboratoires

⇒ n : nombre total de mesures

⇒ p : nombre de laboratoires (pour lesquels on dispose d'une ou deux mesures non exclue des calculs statistiques),

⇒ n' : nombre tronqué de mesures (les valeurs aberrantes ne sont pas prises en compte).

⇒ m : quantité moyenne d'ARN-VIH plasmatique calculée sur n'

⇒ S_R : écart-type de reproductibilité calculé sur n' (variance de répétabilité + variance inter-laboratoire)

⇒ CV : coefficient de variation calculé sur n'

⇒ S_r : écart-type de répétabilité,

⇒ S_r² / S_R² : part de la variance de répétabilité dans la variance totale des mesures.

⇒ Ecart (Nv2-Nv1) : m(niveau 2)-m(niveau1)

4- Estimation de la quantité d'ARN-VIH plasmatique dans les échantillons positifs

Le tableau III présente les résultats des laboratoires tous réactifs confondus.

tableau III - résultats tous réactifs confondus des échantillons niveau 1 et 2

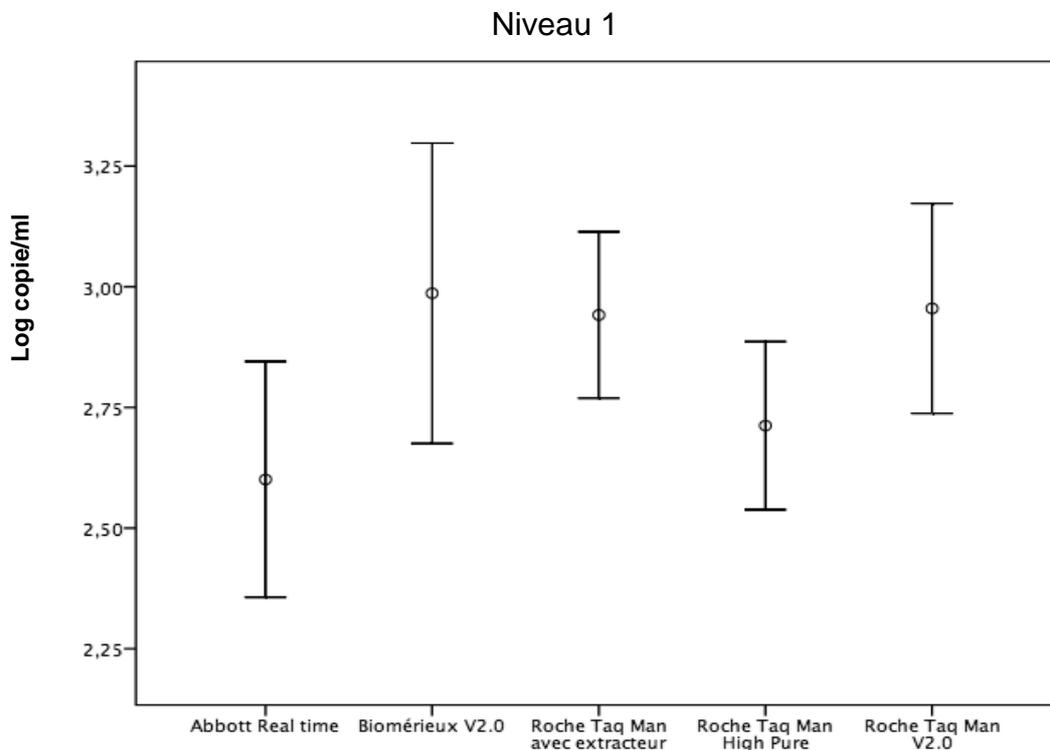
Niveau	p	n	n'	médiane	Moyenne	S _R	CV%	S _r	S _r ² /S _R ²
Niveau 1	113	116	113	2,79	2,78	0,21	7,5	-	-
Niveau 2	117	237	232	3,65	3,67	0,22	6,1	0,015	43%

Les réactifs Abbott RealTime HIV, Biomerieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0, Roche Diagnostics Cobas Taq Man HIV-1 test avec High Pure System, Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test, Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test avec extraction "cobas Ampliprep" ont pu être comparés (les autres réactifs ayant été utilisés par moins de 4 laboratoires).

Aux 2 niveaux de dilution, on observe que les quantités moyennes d'ARN-VIH plasmatique sont significativement différentes selon le réactif ($p=10^{-4}$ pour le niveau 1 et $p=10^{-4}$ pour le niveau 2 avec le test d'ANOVA).

Les figures 6 et 7 montrent la moyenne et l'intervalle de confiance des résultats en fonction du réactif aux 2 dilutions étudiées.

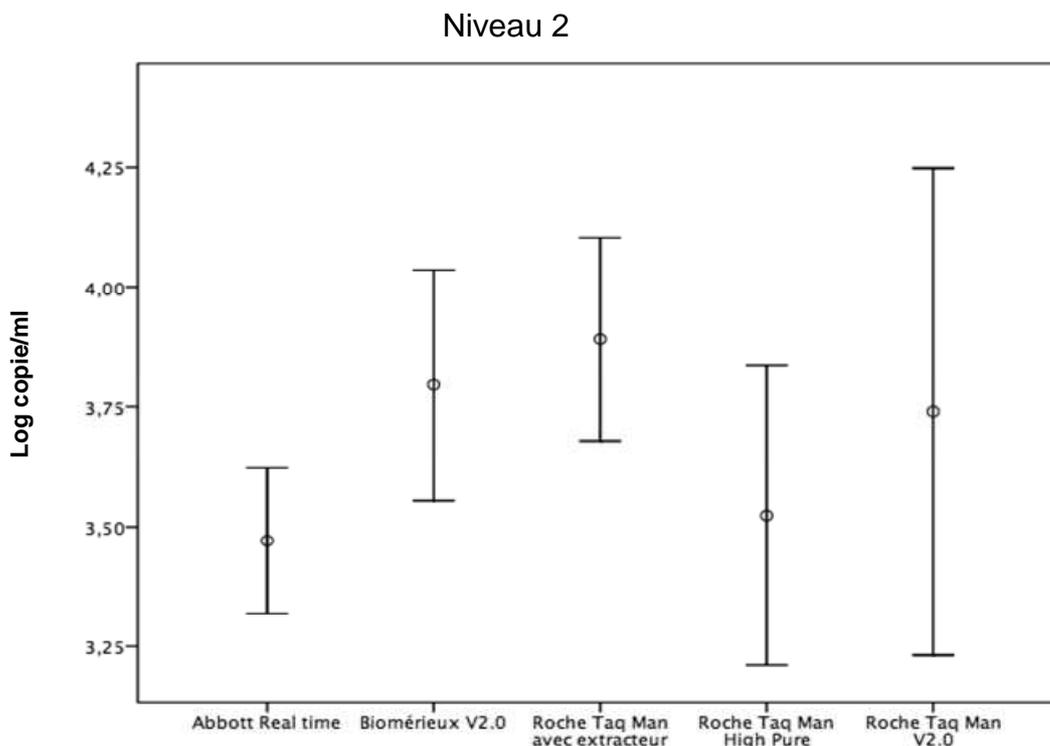
figure 6 – résultats en fonction du réactif utilisé au niveau 1 : moyenne $\pm 1,96$ x écart-type



Sur l'échantillon de niveau 1, les mesures obtenues avec le réactif Abbott RealTime sont significativement plus basses que celles obtenues avec tous les autres réactifs : Biomerieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0 ($p=10^{-4}$), Roche Diagnostics Cobas Taq Man HIV-1 test avec High Pure System ($p=0,003$), Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test ($p=10^{-4}$) ou avec Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test avec extraction AmpliPrep ($p=10^{-4}$) : les laboratoires qui ont utilisé le réactif Abbott RealTime obtiennent en moyenne des mesures plus basses de 0,39 log de copies/ml par rapport Biomerieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0, de 0,11 log de copies/ml par rapport à Roche Diagnostics Cobas Taq Man HIV-1 test avec High Pure System, de 0,35 log de copies/ml par rapport à Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test et de 0,34 log de copies/ml par rapport à Roche Diag. Cobas TaqMan HIV1 test avec extraction AmpliPrep.

Les quantités moyennes estimées par Roche Diagnostics Cobas Taq Man HIV-1 test avec High Pure System sont significativement plus basses de 0,27 log de copies/ml par rapport à celles obtenues avec Biomerieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0 ($p=10^{-4}$), de 0,24 log de copies/ml par rapport à celles obtenues avec Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test ($p=3.10^{-4}$), et de 0,23 log de copies/ml par rapport à celles obtenues avec Roche Diag. Cobas TaqMan HIV1 test avec extraction AmpliPrep ($p=10^{-4}$). On n'observe pas de différence significative entre les quantités moyennes obtenues avec les réactifs Biomerieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0 et Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test ainsi qu'entre Biomerieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0 et Roche Diag. Cobas TaqMan HIV1 test avec extraction AmpliPrep. Il n'y avait aucune différence entre les quantités moyennes observées avec les réactifs Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test et Roche Diag. Cobas TaqMan HIV1 test avec extraction AmpliPrep.

figure 7 – résultats en fonction du réactif utilisé au niveau 2 : moyenne $\pm 1,96 \times$ écart-type



Au niveau 2, on n'observe aucune différence entre les mesures du réactif Biomérieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0 et Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test.

Comme pour le niveau 1, les mesures obtenues avec le réactif Abbott RealTime sont significativement plus basses que celles obtenues avec tous les autres réactifs : Biomérieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0 ($p=10^{-4}$), Roche Diagnostics Cobas Taq Man HIV-1 test avec High Pure System ($p=0,05$), Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test ($p=10^{-4}$) ou avec Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test avec extraction AmpliPrep ($p=10^{-4}$) : les laboratoires qui ont utilisé le réactif Abbott Real time obtiennent en moyenne des mesures plus basses de 0,32 log de copies/ml par rapport Biomérieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0, de 0,05 log de copies/ml par rapport à Roche Diagnostics Cobas Taq Man HIV-1 test avec High Pure System, de 0,27 log de copies/ml par rapport à Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test et de 0,42 log de copies/ml par rapport à Roche Diag. Cobas TaqMan HIV1 test avec extraction AmpliPrep.

Les quantités moyennes estimées par Roche Diagnostics Cobas Taq Man HIV-1 test avec High Pure System sont significativement plus basses de 0,27 log de copies/ml par rapport à celles obtenues avec Biomérieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0 ($p=10^{-4}$), de 0,22 log de copies/ml par rapport à celles obtenues avec Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test ($p=3.10^{-4}$), et de 0,37 log de copies/ml par rapport à celles obtenues avec Roche Diag. Cobas TaqMan HIV1 test avec extraction AmpliPrep ($p=10^{-4}$).

5 - Précision de la mesure d'ARN-VIH plasmatique

Le niveau 1 est caractérisé par des coefficients de variation compris entre 2,9% pour Roche Diag. Cobas TaqMan HIV1 test avec extraction AmpliPrep et 5,2% pour Biomérieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0. Au niveau 2, on observe des coefficients de variation de même grandeur variant de 2,3% pour Abbott RealTime à 7,2% pour Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test (Tableau II).

Au niveau 1, la dispersion des mesures d'ARN-VIH plasmatique est significativement plus faible avec le réactif Roche Diag. Cobas TaqMan HIV1 test avec extraction AmpliPrep qu'avec le réactif Abbott RealTime ($p=0,01$) ainsi qu'avec le réactif Biomérieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0 ($p=0,02$).

Par contre, au niveau 2, la dispersion des mesures d'ARN-VIH plasmatique est significativement plus faible avec le réactif Abbott RealTime et significativement plus élevée avec le réactif Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test.

Pour le niveau de dilution 2, on note que les résultats fournis par les laboratoires ont une bonne reproductibilité ($CV < 4,0\%$) pour tous les réactifs à l'exception du réactif Roche Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test ($CV=7,2\%$). Cependant le nombre d'utilisateurs pour ce dernier réactif était réduit ($n=5$).

En conclusion, on observe que les échantillons du niveau 1, analysés par le réactif Abbott RealTime, sont caractérisés par des mesures plus basses de 0,11 à 0,39 log de copies/ml par rapport aux résultats des autres réactifs. Pour le niveau 2, les résultats du réactif Abbott RealTime sont aussi plus bas de 0,05 à 0,42 log de

copies/ml par rapport aux résultats des autres réactifs. Ceux du réactif Roche Diag. Cobas TaqMan HIV1 test avec extraction AmpliPrep sont plus élevés que tous les autres réactifs.

Lors de la dernière opération du Contrôle National de Qualité de l'ARN-VIH plasmatique en 2005, pour le niveau 2 choisi autour de 4 log de copies/ml, le réactif Roche Diag. Cobas TaqMan HIV1 test avec extraction AmpliPrep avait aussi présenté des résultats de charges virales plus élevés que les autres réactifs utilisés (Bayer Versant HIV1 RNA 3.0 assay (bDNA), Roche Diag.Cobas Amplicor HIV1 Monitor 1.5 ps, Roche Diag.Cobas Amplicor HIV1 Monitor 1.5 us et Roche Diag. Cobas TaqMan HIV1 test sans l'extracteur AmpliPrep).

Analyse qualitative de l'ARN-VIH1

ARN-VIH1 : échantillons négatifs (08-1A, 08-3B, et 08- 2C), échantillons positifs de niveau 1 (08-4A, 08-2B, et 08- 1C) et échantillons positifs de niveau 2 (08-2A et 08-3A, 08-1B et 08-4B, 08-3C et 08-4C).

Méthode et expression des résultats

Les laboratoires ont rendu une mesure qui peut être interprétée comme « détectable » ou « indétectable ».

→ Toute quantification supérieure au seuil de quantification est interprétée comme un résultat qualitatif détectable.

→ Si la mesure quantitative est donnée sous la forme "< au seuil de quantification", le résultat qualitatif est considéré comme indétectable.

→ Si le laboratoire a rendu une quantification nulle, le résultat est considéré comme indétectable.

→ En revanche, si le laboratoire a rendu une quantification non nulle, mais que celle-ci est inférieure au seuil de quantification recommandé par le fabricant, le résultat n'est pas exploité.

Résultats des participants

1- Résultats qualitatifs des laboratoires par réactif pour l'échantillon négatif en ARN-VIH1

Les résultats qualitatifs des laboratoires par réactif pour l'échantillon négatif sont présentés dans le tableau IV.

tableau IV –résultats qualitatifs des laboratoires par réactif pour l'échantillon négatif (08-1A,08-3B, et 08-2C)

Réactifs	Seuil de quantification* (log copies/ml)	Nombre de résultats rendus « < à un seuil de quantification » (indétectables)		Nombre de résultats quantitatifs supérieurs au seuil de quantification* (détectables)	% de résultats indétectables [IC à 95%]	% de résultats conformes au seuil recommandé par le fabricant
		seuil du fabricant (*)	autre seuil ou pas de seuil (**)			
ABBOTT RealTime HIV	Pour 1ml : 1,60 Pour 0,6ml : 1,60 Pour 0,5ml : 1,88 Pour 0,2ml : 2,18	27	11	0	100,0 [90,7-100,0]	71,1 [52,0-84,9]
BIOMERIEUX Nuclisens Easy Q HIV-1 V1.2	25 UI/ml	0	1	0	100,0 [2,5-100,0]	0,0 [0,0-97,5]
BIOMERIEUX Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0	Pour 1ml : 1,18 Pour 0,5ml : 1,70 Pour 0,1ml : 2,47	2	11	0	100,0 [75,3-100,0]	15,4 [1,9-45,4]
ROCHE Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole ultrasensible (Amplicor us)	1,70	1	1	0	100,0 [15,8-100,0]	50,0 [1,3-98,7]
ROCHE Cobas Amplicor HIV-1 Monitor version1.5, en protocole standard (Cobas ps)	2,60	0	1	0	100,0 [2,5-100,0]	0,0 [0,0-97,5]

ROCHE Cobas Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole ultrasensible (Cobas us)	1,70	0	1	0	100,0 [2,5-100,0]	0,0 [0,0-97,5]
ROCHE Cobas TaqMan HIV-1 Test avec High Pure System	1,67	7	7	0	100,0 [75,3-100,0]	46,2 [20,3-76,1]
ROCHE Cobas TaqMan HIV-1 2.0 test	1,30	2	3	0	100,0 [47,8-100,0]	40,0 [5,3-85,1]
ROCHE Cobas TaqMan HIV-1 2.0 test avec extraction "cobas Ampliprep"	1,30	30	8	0	100,0 [90,7-100,0]	78,9 [61,9-90,5]
SIEMENS VERSANT® Test HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) sur Analyseur Système 340 bDNA	1,86	0	1	0	100,0 [2,5-100,0]	0,0 [0,0-97,5]
SIEMENS VERSANT® Test HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) sur Système de biologie moléculaire VERSANT 440	1,85	0	3	0	100,0 [29,2-100,0]	0,0 [0,0-70,8]

*: Seuil recommandé par le fabricant

** : Seuil différent du seuil recommandé par le fabricant ou pas de seuil indiqué dans le bordereau réponse

On constate que près de 40% des laboratoires n'utilisent pas le seuil recommandé par le fabricant ou n'indique pas le seuil utilisé.

→ 24 laboratoires ont rendu un résultat avec la valeur « 0 », sans indiquer de seuil.

→ Aucun laboratoire n'a utilisé le seuil recommandé par le fabricant pour les réactifs suivants : Biomérieux Nuclisens Easy Q HIV-1 V1.2, Roche Cobas Amplicor HIV-1 Monitor version1.5, en protocole standard (Cobas ps), Roche Cobas Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole ultrasensible (Cobas us), Siemens versant® Test HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) sur Analyseur Système 340 bDNA, Siemens versant® Test HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) sur Système de biologie moléculaire versant 440.

Tous les résultats obtenus sont en accord avec la définition de l'échantillon (ARN VIH1 indétectable). La spécificité est donc de 100% pour tous les réactifs.

2- Résultats qualitatifs des laboratoires par réactif pour le niveau 1 positif en ARN-VIH1

Les résultats qualitatifs des laboratoires par réactif pour le niveau 1 sont présentés dans le tableau V.

tableau V – résultats qualitatifs des laboratoires par réactif pour le niveau 1 (08-4A, 08-2B, et 08-1C)

Réactifs	Seuil de quantification* (log copies/ml)	Nombre de résultats rendus « < à seuil de quantification » (indétectables)	Nombre de résultats quantitatifs supérieurs au seuil de quantification (détectables)	% de résultats acceptables (détectables) [IC à 95%]	Nombre de résultats quantitatifs inférieurs au seuil de quantification (non exploités)
ABBOTT RealTime HIV	Pour 1ml : 1,60 Pour 0,6ml : 1,60 Pour 0,5ml : 1,88 Pour 0,2ml : 2,18	0	38	100,0 [90,8-100,0]	-
BIOMERIEUX Nuclisens Easy Q HIV-1 V1.2	25 UI/ml	0	1	100,0 [2,5-100,0]	-
BIOMERIEUX Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0	Pour 1ml : 1,18 Pour 0,5ml : 1,70 Pour 0,1ml : 2,47	0	14	100,0 [76,8-100,0]	-
ROCHE Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole ultrasensible (Amplicor us)	1,70	0	2	100,0 [15,8-100,0]	-

ROCHE Cobas Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole standard (Cobas ps)	2,60	0	-	-	1
ROCHE Cobas Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole ultrasensible (Cobas us)	1,70	0	1	100,0 [2,5-100,0]	-
ROCHE Cobas TaqMan HIV-1 Test avec High Pure System	1,67	0	13	100,0 [75,3-100,0]	-
ROCHE Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test	1,30	0	4	100,0 [39,8-100,0]	-
ROCHE Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test avec extraction "cobas Ampliprep"	1,30	0	36	100,0 [90,3-100,0]	-
SIEMENS VERSANT® Test HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) sur Analyseur Système 340 bDNA	1,86	0	1	100,0 [2,5-100,0]	-
SIEMENS VERSANT® Test HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) sur Système de biologie moléculaire VERSANT 440	1,85	0	3	100,0 [29,2-100,0]	-

* : Seuil recommandé par le fabricant

On observe des résultats corrects sur tous les échantillons au niveau 1 pour tous les réactifs. Seul le réactif Roche Cobas Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole standard (Cobas ps) n'a pu être évalué car le seul laboratoire l'utilisant avait rendu une valeur de 2,38 log copies/ml, inférieure au seuil recommandé.

3 - Résultats qualitatifs des laboratoires par réactif pour le niveau 2 positif en ARN-VIH1

Les résultats qualitatifs des laboratoires par réactif pour le niveau 2 sont présentés dans le tableau VI.

tableau VI – résultats qualitatifs des laboratoires par réactif pour le niveau 2 (08-2A et 08-3A, 08-1B et 08-4B, 08-3C et 08-4C).

Réactifs	Seuil de quantification* (log copies/ml)	Nombre de résultats rendus « < au seuil de quantification » (indétectables)	Nombre de résultats quantitatifs supérieurs au seuil de quantification (détectables)	% de résultats acceptables (détectables) [IC à 95%]
ABBOTT RealTime HIV	Pour 1ml : 1,60 Pour 0,6ml : 1,60 Pour 0,5ml : 1,88 Pour 0,2ml : 2,18	0	75	100,0 [95,3-100,0]
BIOMERIEUX Nuclisens Easy Q HIV-1 V1.2	25 UI/ml	0	2	100,0 [15,8-100,0]
BIOMERIEUX Nuclisens Easy Q HIV-1 V2.0	Pour 1ml : 1,18 Pour 0,5ml : 1,70 Pour 0,1ml : 2,47	0	28	100,0 [87,5-100,0]
ROCHE Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole ultrasensible (Amplicor us)****	1,70	0	4	100,0 [39,8-100,0]
ROCHE Cobas Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole standard (Cobas ps)**	2,60	0	2	100,0 [15,8-100,0]
ROCHE Cobas Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5, en protocole ultrasensible (Cobas us)** **	1,70	0	2	100,0 [15,8-100,0]
ROCHE Cobas TaqMan HIV-1 Test avec High Pure System	1,67	0	27	100,0 [87,1-100,0]
ROCHE Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test	1,30	0	10	100,0 [69,2-100,0]
ROCHE Cobas Taq Man HIV-1 2.0 test avec extraction "cobas Ampliprep"	1,30	0	76	100,0 [95,4-100,0]

SIEMENS VERSANT® Test HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) sur Analyseur Système 340 bDNA	1,86	0	2	100,0 [15,8-100,0]
SIEMENS VERSANT® Test HIV-1 RNA 3.0 (bDNA) sur Système de biologie moléculaire VERSANT 440	1,85	0	6	100,0 [54,1- 100,0]

* : Seuil recommandé par le fabricant

On observe des résultats corrects sur tous les échantillons au niveau 2 pour tous les réactifs.

Commentaires

Lors de cette 8^{ème} opération du Contrôle National de Qualité de l'ARN-VIH plasmatique, on constate la quasi-disparition des réactifs Roche Diagnostics Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5 en protocole ultrasensible (2 utilisateurs) ou en protocole standard (1 seul utilisateur) et Roche Diagnostics Cobas Amplicor HIV-1 Monitor version 1.5 en protocole ultrasensible (1 seul utilisateur) utilisant une technique PCR classique, au profit de techniques de PCR en temps réel telles que Roche Diagnostic Cobas Taq Man HIV1 2.0 test avec extraction « cobas Ampliprep » (39 laboratoires) et Abbott RealTime HIV (38 laboratoires).

Les quantifications sont à nouveau caractérisées cette année par une bonne homogénéité de l'ensemble des mesures avec des coefficients de variation inférieurs à 8% aux 2 niveaux pour tous les réactifs.

On note cependant une hétérogénéité des résultats entre les réactifs pour les niveaux 1 et 2 mais moins importante que l'écart relevé lors de l'opération précédente. En effet, en 2005, cet écart allait jusqu'à 1,44 log copies/ml entre les moyennes extrêmes de 2 réactifs au niveau 1, et était de 0,63 log copies/ml pour le niveau 2. Pour cette opération de 2010, cet écart va jusqu'à 0,39 log copies/ml pour le niveau 1 et jusqu'à 0,42 log copies/ml pour le niveau 2.

Des différences de justesse entre les différentes techniques sont observées. D'une part, les mesures obtenues avec le réactif Abbott RealTime sont inférieures aux mesures de tous les autres réactifs (différence en moyenne de 0,30 log de copies/ml au niveau 1 et de 0,27 log de copies/ml au niveau 2) et d'autre part, des charges virales plus élevées ont été obtenues avec le réactif Roche Diag. Cobas Taq Man HIV1 test avec l'extracteur Cobas AmpliPrep par rapport aux autres réactifs pour le niveau 2. Ces différences doivent être prises en compte dans le suivi des patients.

L'analyse des résultats qualitatifs n'a montré aucun faux positifs alors que lors de l'opération de 2005, le nombre de faux positifs était non négligeable (8,1%).

Enfin, quel que soit le réactif utilisé, les seuils de quantification, indiqués par les fabricants dans leur notice, ne sont pas toujours respectés par les laboratoires. Le laboratoire se doit de valider et tracer l'utilisation d'un seuil différent.

Conclusion

Globalement, on note peu de valeurs aberrantes ou isolées, ce qui montre que les résultats rendus sont homogènes en intra-réactif, avec des coefficients de variation faibles. Au cours de cette opération aucun faux positif n'a été relevé, contrairement aux opérations précédentes de 1997 à 2005.

On note, de plus, une diminution de l'écart entre les moyennes extrêmes de 2 réactifs pour les niveaux 1 et 2 par rapport à l'opération de 2005. Pour les échantillons ne contenant pas d'ARN VIH1 ou à un niveau inférieur au seuil de la technique, il est rappelé de ne pas rendre la valeur « 0 » mais « < au seuil recommandé » en précisant ce seuil.