

II- CONTROLE DE QUALITE INTERNE

Il existe des types de contrôle interne utilisés pour valider la fiabilité du test :

- des échantillons connus (témoins ou contrôles négatif et positif) sont fournis avec le kit de test pour vérifier si la procédure fonctionne correctement.
 - Exemple dans les tests immuno enzymatiques (ELISA)
- contrôle intégré dans le dispositif même du test (bande ou spot de contrôle) pour valider le résultat du test.
 - Exemples : Determine, UniGold.

Un résultat est invalide quand cette bande ou ce spot de contrôle est absent(e)

Conduite à tenir devant un résultat invalide

PROBLEMES	CAUSES POSSIBLES	CONDUITE À TENIR
Absence de la bande ou spot de contrôle	Test ou contrôle endommagé	<ul style="list-style-type: none"> • Répéter avec un nouveau test et le même échantillon de sang
	Procédure non suivie correctement	<ul style="list-style-type: none"> • Suivre chaque étape du test conformément à la fiche opératoire standard. • Vérifier le volume de l'échantillon et du tampon • Respecter la durée de chaque étape du test.
	Kits de tests périmés ou mal conservés	<ul style="list-style-type: none"> • Vérifier la date d'expiration des tests • Vérifier la fiche de températures des lieux de conservation

Comment évaluer la sensibilité et la spécificité d'un test

Résultat de dépistage	Statut réel		Total
	Malade	Non malade	
Positif	a	b	a + b
Négatif	c	d	c + d
Total	a + c	b + d	a + b + c + d

a : Nombre de personnes malades détectées par le test (vrais positifs)

b : Nombre de personnes bien portantes reconnues comme malades par le test (faux positifs)

c : Nombre de personnes positives non détectées par le test (faux négatifs)

d : Nombre de personnes bien portantes reconnues comme telles par le test (vrais négatifs)

$$\text{Sensibilité} = \frac{a}{a+c} = x \% \quad \text{Spécificité} = \frac{d}{b+d} = y \%$$

En conclusion, on dit que :

La sensibilité du test est à x %, la spécificité du test est à y %

III- EVALUATION EXTERNE DE LA QUALITE (EEQ)

C'est une évaluation périodique effectuée par un laboratoire superviseur. Elle est destinée à évaluer la performance d'un laboratoire ou d'un site de dépistage.

L' EEQ :

- Permet une comparaison des performances et des résultats entre différents sites d'analyse
- Fournit un système de surveillance avancée pour les problèmes éventuels associés aux kits ou aux autres activités
- Eclaire de manière objective la qualité de dépistage
- Identifie les volets qui ont besoin d'amélioration
- Identifie des besoins de formation.

L'EEQ s'effectue à tous les niveaux de dépistage :

- Service de Laboratoire National de Référence (LNR)
- Laboratoire Régional de Référence (CHU, CHRR, CHD)
- Centre de Dépistage de VIH

III-1. Méthodes de l'Evaluation Externe de la Qualité :

III-1.1. Le test de compétence

- Le laboratoire de référence envoie des panels d'échantillons à plusieurs sites de dépistage
- Les sites traitent ces panels et rendent les résultats
- Ces résultats indiquent la qualité de la performance du personnel et des activités au niveau du site de dépistage
- Les résultats sont souvent comparés à ceux de plusieurs autres sites de dépistage.

III-1.2. L'évaluation sur site (supervision formative)

Les visites périodiques sont effectuées pour évaluer les activités de laboratoire. Ces visites se focalisent sur la manière du laboratoire d'évaluer ses activités et d'assurer la qualité du dépistage. Elles fournissent des informations pour améliorer des processus internes. Elles mesurent les points forts et les points à améliorer.

III-1.3. Le Contrôle Qualité Externe

Le processus par lequel on sélectionne au hasard des échantillons déjà traités en routine au site de dépistage (1/10 des sérums négatifs, tous les sérums positifs et tous les échantillons indéterminés), et on les envoie au laboratoire de référence pour validation. Il est employé pour détecter des erreurs.

Le CQE doit aboutir à des actions correctives

Fiche de transfert d'échantillons pour le CQ de routine VIH (en 2 exemplaires : 1 envoi et 1 archive)

Région : _____

Nom du laboratoire de dépistage : _____

Code du laboratoire de dépistage : _____

Contact (Nom, adresse, téléphone/mail) : _____

Nom du laboratoire superviseur (destinataire) : _____

Date d'envoi : ____ / ____ / ____

N°	Code d'identification patient	Résultat final du site de dépistage			Date de la collecte d'échantillon	Type d'échantillon (sérum ou DBS...)	Date d'arrivée au laboratoire superviseur	Résultat final du contrôle			Résultat final d'un autre test réalisé	Date de réception des résultats au niveau du site
		T1	T2	T3				T1	T2	T3		
Total :												

Commentaires (à remplir par le site de dépistage):

Tests: T1 _____ T2 _____ T3 _____

Lot: _____ Lot: _____ Lot: _____

Exp: _____ / _____ / _____ Exp: _____ / _____ / _____ Exp: _____ / _____ / _____

Commentaires du laboratoire superviseur :

IV- UTILISATION ET ENTRETIEN DES EQUIPEMENTS (Réfrigérateur, congélateur, micropipette, centrifugeuse)

Un équipement fonctionnel est vital au service de qualité.

- ♦ Les contrôles de fonctionnement de l'équipement sont effectués régulièrement :
 - Chaque jour, chaque semaine, chaque mois
 - Après réglage ou réparation.

Exemple:

- Surveiller les températures des réfrigérateurs
- Vérifier l'exactitude des pipettes
- Contrôler la vitesse de centrifugeuse.
- ♦ Assurer la traçabilité de chaque activité d'entretien ou de maintenance
- ♦ Ranger dans une archive tous les documents.

IV-1. Réfrigérateur et congélateur

- Nettoyer périodiquement l'intérieur et l'extérieur
- S'assurer que la porte ferme hermétiquement
- Contrôler quotidiennement la température : mentionner sur une fiche de température :
 - Réfrigérateur : 2°C – 8°C
 - Congélateur : -20°C, -40°C, ou -80°C

ATTENTION : NE RANGEZ ni nourriture ni boissons dans les réfrigérateurs ou congélateurs de laboratoire

IV-2. Pipette (micropipette ou pipette de transfert)

- Choisir la pipette appropriée selon le volume nécessaire
- S'assurer que les pipettes, les embouts et les échantillons sont à la même température
- Fixer fermement l'embout à la pipette
- Tenir la pipette verticalement en aspirant
- Placer l'embout juste en dessous de l'échantillon
- Eviter les bulles d'air
- Jeter les embouts contaminés dans le container approprié après utilisation.

NE PAS RE-UTILISER :

- les embouts
- les pipettes en plastique graduées

En cas de mauvais fonctionnement des Pipettes

Problème	Cause Possible	Action
Fuite	<ul style="list-style-type: none">• Embout : pas bien fixés	Fixer fermement
	<ul style="list-style-type: none">• Corps étranger : entre l'embout et le cône de la pipette	<ul style="list-style-type: none">• Nettoyez les cônes des embouts
Dispensation	<ul style="list-style-type: none">• Opération incorrecte• Embout : pas bien fixés	<ul style="list-style-type: none">• Suivre attentivement les instructions du fabricant• Fixez fermement

IV-3. Centrifugeuse

- Opérer toujours avec les couvercles fermés
- Équilibrer le contenu avant la mise en marche
- Contrôler la vibration
- Ne pas l'ouvrir jusqu'à ce que le rotor s'arrête complètement
- Garder les capsules sur les tubes au tournage
- Entretien de routine :
 - Nettoyer l'intérieur, l'anneau du condensateur, le ventilateur, et les écrans
 - Faire attention aux bruits et vibrations inhabituels
 - Chercher les preuves de dégradation, de défauts de montage, de corrosion, d'usure ou des signes de lassitude
 - Régler la vitesse
 - Augmenter progressivement la vitesse jusqu'à la vitesse optimale
 - Débrancher la centrifugeuse avant l'entretien, le nettoyage ou la vérification
 - Faites attention en retirant les liquides renversés, les tubes cassés après une mise en marche
 - Si des tubes sont cassés, maintenir le couvercle fermé et laisser passer 30 minutes avant de nettoyer
 - Utiliser des pinces pour retirer les débris de verre.

PROCEDURES OPERATOIRES STANDARDS (POS) POUR DETERMINE VIH 1/2

Caractéristiques

Pour la détection d'anticorps anti-VIH-1/VIH-2, test rapide immuno chromatographique à flux latéral, test T1 de l'algorithme de dépistage de VIH à Madagascar.

I-Lieu de stockage du kit DETERMINE VIH 1/2 :

- à température ambiante, sec, à l'abri du rayon du soleil et de la chaleur.

II- Matériels nécessaires :

- Gants
- Blouse
- Alèse
- Coton roulé en petite boule ou compresse
- Alcool à 70 °C
- Vaccinostyle ou lancette à usage unique
- Tube capillaire ou pipette de transfert
- Kit complet Determine VIH 1/2 : test, tampon « Chase Buffer »
- Micropipette 20 - 200µl
- Embouts stériles 20-200µl
- Minuterie à 60 mn
- Container pour objets tranchants (contenant de l'eau de Javel 10%)
- Poubelle pour déchets souillés (contenant un sachet débordant)
- Eau de Javel 12°
- Marqueur permanent.

III- Echantillons

- Sérum
- Sang total

IV-Procédure à suivre pour dépistage VIH par DETERMINE au bout de doigt:

Le test T1 par DETERMINE doit se faire de préférence au bout de doigt sur sang total.

IV-1 Au Centre de Santé de dépistage pour le prélèvement de sang total au bout du doigt:

- Vérifier la date d'expiration du test de DETERMINE VIH 1/2
- Sortir le nombre de tests nécessaires de leur enveloppe, le tampon de fixation pour le sang complet.

IV-1-1 Accueil du client:

- Appeler le client dans la salle de prélèvement
- Faire asseoir client et lui expliquer qu'on va lui faire un prélèvement au bout du doigt.

IV-1-2 Préparation du cahier de registre de laboratoire :

- Enregistrer le client avec son code client dans le registre de laboratoire
- Transcrire le code du client sur le test.

IV-1-3 Prélèvement du client :

- Choisir le **3^e doigt** du client et la partie la moins rugueuse
- Désinfecter avec du coton imbibé d'alcool à 70°C le bout du doigt et mettre la main du patient en position déclive
- Sécher avec un coton
- Jeter dans un container pour objet souillé non tranchant les cotons utilisés
- Piquer la partie désinfectée d'un seul coup sec avec le vaccinostyle à usage unique
- Essuyer doucement la 1^{ère} goutte de sang avec un coton sec, tout en évitant d'appuyer sur le point de piqûre au risque de coagulation rapide
- Jeter les vaccinostyles et les cotons utilisés dans leur container respectif
- Laisser sortir **spontanément la 2^{ème} goutte de sang** et la recueillir soit :
 - ☞ en aspirant avec la pipette de transfert en pressant avec les doigts sur la partie médiane de la pipette. (Arrêter la pression sur la pipette de transfert dès que le trait de remplissage du tube de transfert est atteint)
 - ☞ en aspirant par une micropipette 50 µL de ce sang total
 - ☞ en utilisant le tube capillaire en le mettant seulement de façon verticale au contact de la goutte de sang sans l'aspirer par pression, et laissant le sang remplir automatiquement le tube capillaire.
Une fois la quantité nécessaire requise est obtenue boucher l'extrémité supérieure par la pulpe du doigts.

IV-1-4 Pour le confort du client :

Entre-temps :

- Donner une petite boule de coton sec au client et lui demander de l'appliquer sur le point de piqûre en pressant assez fort pendant 5 minutes pour arrêter le saignement
- Faire jeter la boule de coton sec souillé de sang du patient dans le container de déchets pour objets non souillés à l'arrêt du saignement
- Envoyer le client à la salle d'attente en attendant le Résultat du test T1 DETERMINE VIH 1/2.

IV-1-5 Suite de la manipulation

Sur le test de DETERMINE VIH 1/2 portant déjà le code client :

- **Déposer le sang** recueilli sur la zone de dépôt indiqué par les 3 flèches horizontales du test de DETERMINE VIH 1/2 soit :
 - en relâchant la pression sur la pipette de transfert.
 - en plaçant le tube capillaire sur la zone de dépôt,
 - en enlevant la pulpe du doigt du tube pour chasser le sang à sur le dépôt d'absorbance
 - en déposant les 50µl de sang total par la micropipette.
- Attendre une minute, puis ajouter **une SEULE goutte de Tampon « Chase Buffer »** contenu dans le Kit, en tenant verticalement le flacon au dessus de la zone de dépôt et en appuyant en une seule fois sur le flanc du flacon du Tampon « Chase Buffer » (**éviter surtout d'incliner le flacon en versant la goutte**)
- Régler la minuterie à 15 minutes
- Attendre l'alarme de 15 minutes pour la lecture
- Lire immédiatement le résultat (ni avant ni après les 15 minutes) et l'interpréter suivant les figures ci-dessous.

V- Interprétation des résultats du Test DETERMINE:

Résultats :

Positif : (réactif)

2 lignes de n'importe quelle intensité apparaissent dans les deux zones de contrôle et client.



Négatif : (non réactif)

1 ligne apparaît dans la zone de contrôle et aucune ligne dans la zone client.



Invalide :

Aucune ligne n'apparaît dans la zone de contrôle :

- Ne pas rapporter les résultats invalides
- Répéter le test avec un nouveau dispositif même si une ligne apparaît dans la zone patient.



N.B : Mesures correctives en cas de test invalide :

Il faut écrire dans une fiche de mesure corrective les procédures suivantes :

1. répéter le test en veillant à suivre correctement toute la procédure du FOS ci-dessus
2. si le problème d'invalidité de test persiste :
 - Informer votre supérieur (responsable du laboratoire ou centre de dépistage)
 - Signaler l'incidence par écrit au LNR en précisant le lot, la date d'expiration, le lieu de stockage du kit de DETERMINE VIH 1/2 dans votre Centre.

III-2 DEPISTAGE DE VIH par T1 DETERMINE à partir du serum

Le dépistage de VIH peut se faire également à partir du sérum en suivant les procédures suivantes. Dans cette procédure, **on n'aura plus besoin d'utiliser du Tampon « Chase Buffer »** :

- A partir de cryotubes remplis de sérum avec code client disposé verticalement dans un portoir
- Prendre 50 µl de sérum avec une micropipette (ou un peu de sérum jusqu'au trait de la pipette de transfert en aspirant)
- **Déposer ce 50 µl de sérum** dans la zone de dépôt avec la micropipette (ou une goutte de sérum en relâchant la zone de pression de la pipette de transfert)
- Régler la minuterie à 15 minutes
- Attendre l'alarme de 15 minutes pour la lecture
- Lire immédiatement le résultat (ni avant ni après les 15 minutes) et l'interpréter suivant les figures précédentes.

PROCEDURES OPERATOIRES STANDARDS (POS) POUR RETROCHECK VIH

Caractéristiques

Pour la détection d'anticorps anti-VIH-1/VIH-2, test rapide immuno chromatographique à flux latéral, test T2 spécifique de l'algorithme de dépistage de VIH à Madagascar.

I- Lieu de stockage du kit Retrocheck :

- à température ambiante, sec, à l'abri du rayon du soleil et de la chaleur.

II- Matériels nécessaires :

- Gants
- Blouse
- Alèse
- Pour le prélèvement sanguin : aiguille et tube vacutainer, ou utilisation de sang complet : lancette, tube capillaire..., alcool, coton ou compresse ou aliquot de sérum, ou de plasma
- Kit complet : test, tampon réactif, dispositif-test, pipette
- Minuterie à 60 mn
- Portoir pour tubes
- Container pour objets tranchants (contenant de l'eau de Javel 10%)
- Poubelle pour déchets souillés (contenant de l'eau de Javel 10%)
- Eau de Javel 12°
- Marqueur permanent.

III - Echantillons :

- Sérum
- Sang total
- Plasma