

Recommandations d'utilisation des tests unitaires sur support membranaire à lecture visuelle

Un taux de résultats « faussement négatifs » a été mis en évidence avec les tests unitaires sur support membranaire à lecture visuelle (Immunodot, Immunochromatographie...) supérieur à celui des autres techniques lors de leur utilisation dans les laboratoires. Ces observations ont été faites dans différents domaines de la biologie médicale : sérologie virale (anticorps anti-VCA pour l'EBV, anticorps anti-VHC, anticorps anti-VIH), auto-immunité (anticorps anti-thyroperoxydase, anticorps anti-myéloperoxydase) ou bactériologie (diagnostic direct de *Chlamydia trachomatis*).

Aussi, l'Afssaps a mis en place un groupe de réflexion réunissant des représentants de l'Afssaps, des biologistes hospitaliers et privés et des industriels dont le travail a abouti à l'élaboration de recommandations pour une utilisation plus sûre de ces dispositifs. Les travaux ont été conduits sous l'égide de la Commission du contrôle de qualité du Ministère de la Santé et de la Commission nationale des dispositifs médicaux de diagnostic in vitro de l'Afssaps. Par ailleurs, une réflexion sur l'amélioration des tests et des notices est également en cours.

I. Le rôle du biologiste dans le choix du système analytique

Pour chaque analyse biologique, le biologiste doit choisir les systèmes analytiques présentant des performances adaptées à ses objectifs tout en prenant en compte la place du résultat dans l'algorithme de diagnostic (urgence, dépistage, confirmation...). Par objectifs, il faut comprendre le type de patients concernés (âge, pathologie...), le type de médecins prescripteurs (généraliste ou spécialiste), la fréquence d'exécution de cette analyse au sein du laboratoire, la qualification du personnel manipulant le test (personnel de laboratoire, personnel de service de soins),...

Si le choix du biologiste porte sur un test unitaire à lecture visuelle, le laboratoire devra vérifier en particulier les points suivants :

- les destinations cliniques (*intended used*) indiquées dans la notice d'utilisation doivent être en adéquation avec l'utilisation prévue par le laboratoire.
- les performances du test en termes de sensibilité et de spécificité doivent être en adéquation avec l'utilisation qui sera faite de ce test soit à l'étape de dépistage, soit à l'étape de confirmation ou d'identification.
- la praticabilité du test doit être adaptée aux types de personnel utilisateur et, si nécessaire, à un personnel de service de soins dans le cadre de la biologie délocalisée.
- le laboratoire doit enfin vérifier les performances analytiques obtenues dans l'environnement d'utilisation souhaité.

Pour le cas particulier du recours aux tests unitaires sur support membranaire à lecture visuelle, il convient de prendre en considération la fréquence d'utilisation :

- test pratiqué peu fréquemment ou de façon irrégulière : risque de maîtrise insuffisante de la lecture
- test peu compatible avec de grandes séries du fait des délais de réalisation à respecter.

Cette démarche, qui s'inscrit dans l'application de la norme NF EN ISO 15189, est précisée dans le GBEA au chapitre II-3 (arrêté du 2/11/94 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale) : « **Les systèmes analytiques utilisés pour l'obtention des résultats doivent être choisis en fonction des performances souhaitées et des résultats des expertises réalisées indépendamment du constructeur ou du vendeur.** Si le système analytique choisi n'a pas fait l'objet d'expertise indépendante du constructeur, le biologiste doit s'assurer que les résultats fournis sont conformes aux exigences attendues et donc transférables dans la mesure du possible. ».

II. Notions critiques spécifiques aux tests unitaires sur support membranaire à lecture visuelle

La notion de tests unitaires sur support membranaire à lecture visuelle ne doit pas être confondue avec la notion de tests facilement utilisables (une formation spécifique est nécessaire). Ces tests entraînent facilement un non-respect des procédures opératoires qui peut influencer sur la qualité du résultat. Le GBEA précise au Chapitre III-3 que « La validation analytique des examens doit être soumise à des procédures précises écrites. Elle ne doit être effectuée qu'après avoir vérifié les indicateurs de bon fonctionnement des instruments et pris connaissance des résultats du contrôle de qualité interne ». Le chapitre III souligne les points importants à respecter lors de la pratique de ces tests.

De manière générale, les tests unitaires sur support membranaire à lecture visuelle possèdent un **témoin de réactivité** (migration), qui est un témoin du bon déroulement du processus opératoire. Cependant, il est important de rappeler que **ce témoin de réactivité n'est en aucun cas un témoin de positivité**. L'intensité de coloration de ce témoin de réactivité n'est en aucun cas proportionnelle à une concentration seuil de l'analyte recherché (pas d'étalonnage possible).

Enfin, ce témoin de réactivité ne peut pas non plus être considéré comme **contrôle de qualité interne** (CQI). En général, les CQI ne sont pas fournis avec les tests unitaires sur support membranaire à lecture visuelle. Il est donc recommandé aux biologistes de se procurer des CQI lorsqu'ils existent : contrôle négatif, contrôles positifs dont au moins un contrôle positif faible compte tenu de la subjectivité de la lecture. La reproductibilité inter-lots doit également être vérifiée.

III. Etape des procédures opératoires

En cas de non respect des procédures définies spécifiquement par le fabricant, il existe des étapes critiques dans le mode opératoire dont le niveau d'impact sur les résultats peut-être considérable :

- la **phase pré-analytique** est cruciale pour l'optimisation des résultats. En fonction de la nature de l'échantillon et du coffret réactif, les modalités de préparation de l'échantillon peuvent être différentes (homogénéisation, filtration...).
- les **volumes des échantillons de patients et des différents réactifs** à déposer sur les supports doivent être respectés tels que mentionnés dans la notice. Si la notice ne donne qu'une mesure subjective de la quantité à déposer (exemple : grosse goutte), le biologiste doit assurer la reproductibilité de ses dépôts et vérifier les performances du test dans les conditions choisies.
- il est important de respecter la **durée de mise à température des réactifs** avant utilisation (durées minimales et maximales). Seul le nombre nécessaire de tests unitaires est remis à température, les autres unités devant être remises immédiatement à la température de conservation (en général, entre 2 et 8°C) dans le contenant adéquat (exemple : pochette avec sachet déshydratant). De même, les réactifs non utilisés doivent être stockés à la température de conservation.
- le non-respect des différents **temps d'incubation et des modalités d'agitation** peut être responsable d'une baisse des performances du test. « Tests unitaires sur support membranaire à lecture visuelle » n'est pas synonyme de « tests rapides ». La personne effectuant ces tests doit donc être disponible à chaque étape de la manipulation dans le respect des délais.
- le **lavage** est un paramètre critique de la réalisation de l'analyse. La nature de l'agent de lavage et les modalités d'agitation doivent être respectées. De même, il est important d'éliminer le surplus d'agent de lavage.
- le **décalage entre la fin de réalisation de l'analyse et la lecture** doit être précis. Selon la notice du réactif, la lecture peut-être réalisée en un temps ou en deux temps (attention : lire aux deux temps précisés et non pas entre les deux, en particulier en cas de résultat négatif). Là, aussi, cela nécessite une disponibilité de l'utilisateur.
- la **lecture** du support d'analyse est la phase la plus critique car subjective. Elle doit être encadrée par une formation stricte du personnel utilisateur qui doit notamment savoir reconnaître un résultat positif faible, ceci pour chaque analyse effectuée par ce type de test. L'automatisation de la lecture est à envisager lorsqu'elle est proposée pour pallier cette subjectivité, d'autant plus qu'elle permet un archivage du résultat.
- enfin, concernant l'**interprétation** du test, les données du CNQ nous obligent à rappeler ici que ces tests unitaires sur support membranaire à lecture visuelle sont **qualitatifs**. Ils peuvent dans certains cas être semi-quantitatifs.

En bref

- Vérifier l'adéquation entre le réactif choisi et la destination clinique désirée, l'adéquation entre le réactif choisi et les performances analytiques attendues (sensibilité, spécificité).
- Vérifier l'adéquation entre la praticabilité et la qualification du personnel utilisateur.
- Former les utilisateurs à la technique et à la lecture du support d'analyse pour chaque réactif utilisé au laboratoire.
- Respecter scrupuleusement la procédure technique de la notice (préparation des échantillons, mise à température des réactifs, quantité déposée, temps d'incubation, modalités d'agitation et de lavage, temps de lecture,...).
- Respecter notamment le délai entre la fin de réalisation de l'analyse et la lecture du résultat avant de pouvoir qualifier un échantillon comme négatif.
- Ne pas comparer l'intensité de coloration de la réponse du sérum patient à celle du témoin de réactivité.
- Ne pas confondre titre et fourchette de titres.
- Vérifier enfin les performances du réactif obtenues dans l'environnement d'utilisation choisi.

Contact : Anne Guyard - cnq.labm@afssaps.sante.fr