

**Contrôle externe de la qualité**

**Détection des virus de l'influenza A et B**

**Comité d'assurance qualité en microbiologie  
Laboratoire de santé publique du Québec**

Novembre 2016

## **AUTEURE**

Maud Vallée, Ph. D.

Responsable du programme d'assurance qualité en microbiologie

Laboratoire de santé publique du Québec

## **COMITÉ DE RÉVISION**

Hugues Charest, Ph. D.

Responsable du secteur de biologie moléculaire

Laboratoire de santé publique du Québec

Micheline Fauvel, M. Sc.

Laboratoire de santé publique du Québec

Richard Marchand, M.D., microbiologiste-infectiologue

Laboratoire de santé publique du Québec

## **MISE EN PAGE**

Nathalie Goyer, agente administrative

Programme d'assurance qualité en microbiologie

Laboratoire de santé publique du Québec

## Informations générales

### Date du contrôle

---

- Envoi : 21 novembre 2016
- Fermeture : 5 décembre 2016

### Bilan de la participation

---

|                                                                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Laboratoires de biologie médicale du Québec ayant participé au contrôle externe de la qualité pour la détection des virus de l'influenza. | 64 |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|

Trois laboratoires participants sont exclus du bilan de participation et de la compilation des résultats de ce rapport dû à un problème informatique lors de la saisie des résultats.

### Taux de participation

---

- 100 % de taux de participation des laboratoires du réseau de la santé québécois (64/64).

### Informations déposées sur le portail web du programme CEQ du LSPQ

---

- Résultats attendus accessibles en ligne : 8 décembre 2016
- Rapport final disponible en ligne : 21 février 2017

*Il est obligatoire de participer au contrôle externe de la qualité depuis le 10 septembre 2010 selon la circulaire ministérielle 2010-20. Une erreur majeure peut être attribuée aux laboratoires qui ne fournissent pas une raison valable à leur non-participation.*

# Rapport

## Avant-propos

Ce rapport présente l'analyse des résultats fournis par les laboratoires ayant participé au contrôle externe de la qualité pour la détection des virus de l'influenza A et B par des tests rapides de détection d'influenza (TRDI) et des tests d'amplification d'acides nucléiques (TAAN) suite à l'envoi d'un panel de spécimens en date du 21 novembre 2016.

## Objectif

Le comité d'assurance qualité en microbiologie avait fixé l'objectif suivant pour cet envoi :

- Évaluer la capacité des laboratoires à identifier correctement les échantillons négatifs et positifs pour la présence des virus de l'influenza A et B, et à déterminer le sous-type des virus de l'Influenza A détectés, le cas échéant.

## Échantillons

Cinq spécimens simulés de sécrétions naso-pharyngées prélevées par aspiration ou écouvillonnage ont été soumis pour la détection des virus de l'influenza A et B par un test d'amplification des acides nucléiques (TAAN) et un test de détection rapide des virus de l'influenza (TRDI).

## Résultats attendus

**Tableau 1 Résultats attendus**

| Spécimens | Agents étiologiques       | Résultat |
|-----------|---------------------------|----------|
| 19161101  | Influenza A               | Négatif  |
|           | Influenza B               | Positif  |
| 19161102  | Influenza A H3N2          | Positif  |
|           | Influenza B               | Négatif  |
| 19161103  | Influenza A               | Négatif  |
|           | Influenza B               | Négatif  |
| 19161104  | Influenza A H3N2          | Positif  |
|           | Influenza B               | Négatif  |
| 19161105  | Influenza A H1N1 pdm 2009 | Positif  |
|           | Influenza B               | Négatif  |

*Le LSPQ et le Comité d'assurance qualité en microbiologie veulent établir clairement que les observations tirées de ce rapport et des tableaux de résultats ne doivent pas être interprétées comme un jugement de valeur sur la qualité des troussees commerciales utilisées par les participants.*

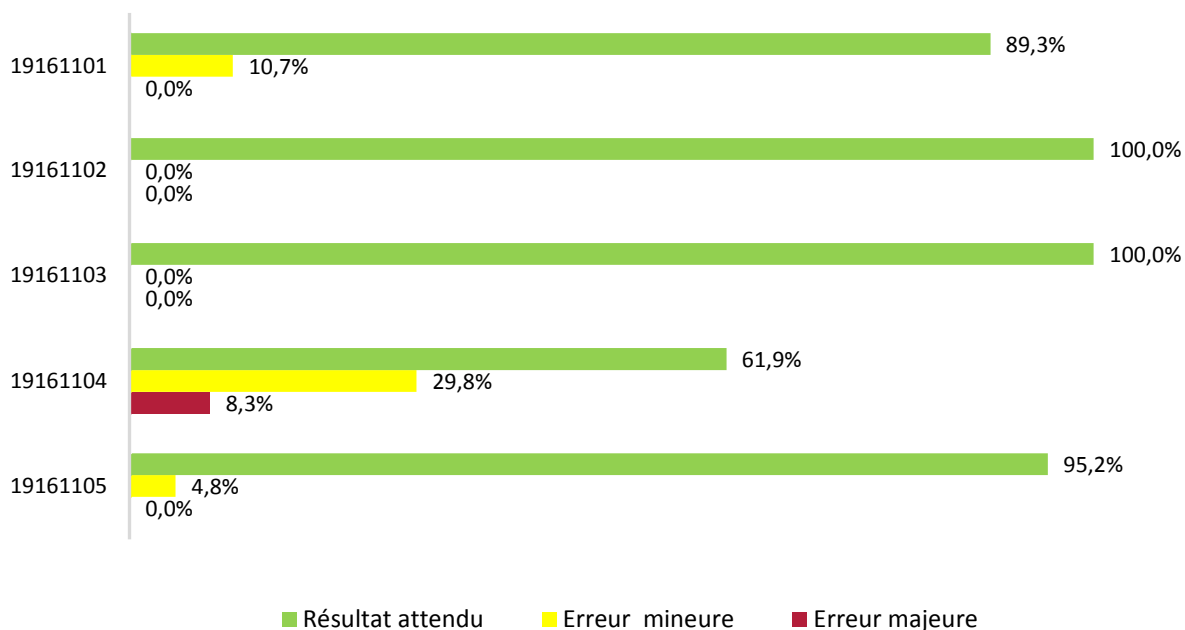
Au total, 64 laboratoires du réseau de la santé québécois ont participé à ce contrôle. Quarante-deux laboratoires ont rapporté des résultats pour les TRDI et 29 laboratoires pour les TAAN. Sept d'entre eux ont soumis des résultats obtenus par les deux méthodes.

## TRDI

**Tableau 2** Trousses utilisées pour la détection des virus de l'influenza par des tests rapides

| Trousses TRDI                           | Nombre de laboratoires |
|-----------------------------------------|------------------------|
| BinaxNOW Influenza A & B Card (Alere)   | 9                      |
| Directigen™ EZ Flu A+B (BD Diagnostics) | 1                      |
| QuickVue Influenza A+B Test (Quidel)    | 14                     |
| Sofia Influenza A+ B FIA (Quidel)       | 1                      |
| Veritor™ System (BD Diagnostics)        | 11                     |
| Xpect™ Flu A&B (Remel)                  | 6                      |
| <b>TOTAL</b>                            | <b>42</b>              |

**Figure 1** Performance des laboratoires pour la détection des virus de l'influenza A et B par des TRDI (n=42)



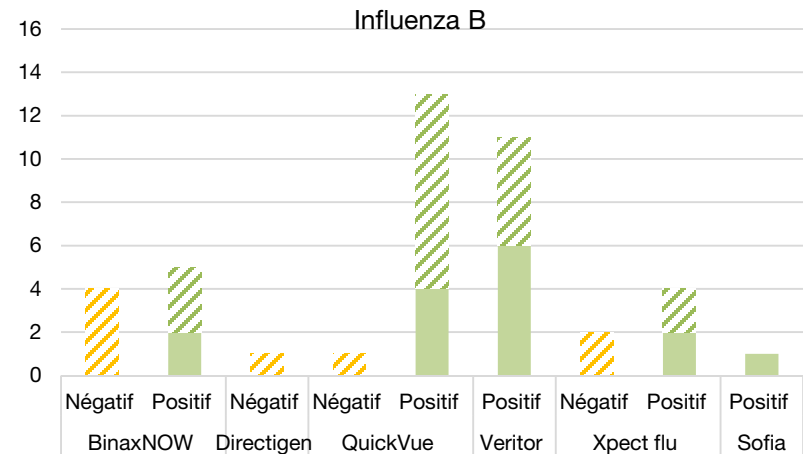
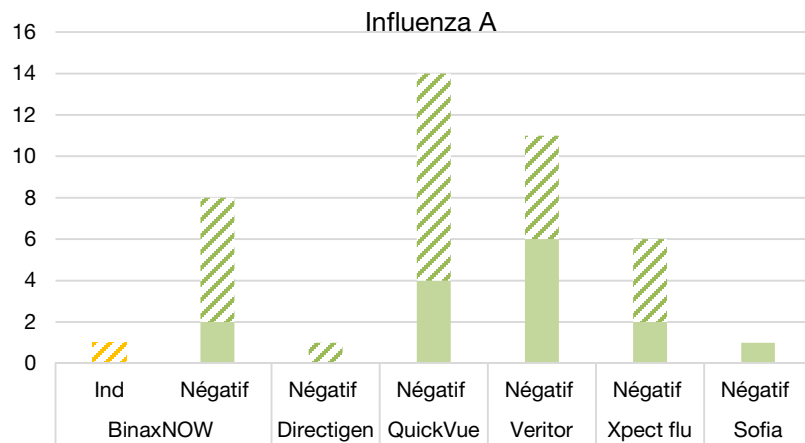
Des performances variables selon le spécimen testé ont été obtenues par les laboratoires effectuant la détection des virus de l'influenza par des TRDI (figure 1). Les résultats rapportés pour les spécimens 19161102, 19161103 et 19161105 sont très bons avec 100 %, 100 % et 95 % de résultats attendus, respectivement. Toutefois, la performance des laboratoires pour les spécimens 19161101 et 19161104 est plus faible avec 90,5% et 61,9% de résultats attendus, respectivement. C'est deux spécimens contenant une charge virale plus faible. Une erreur mineure a été attribuée aux laboratoires qui ont rapporté un résultat négatif ou indéterminé, mais qui auraient référé le spécimen pour confirmation par TAAN. Des erreurs majeures ont été attribuées aux laboratoires qui n'ont pas été en mesure de détecter la présence de virus dans les spécimens qui en contenaient et qui n'auraient pas référé le spécimen pour un TAAN (figure 1).

La figure 2 présente les résultats obtenus pour les deux spécimens qui contenaient une charge virale plus faible (Ct 28) selon le type de trousse rapide de détection de l'influenza. Une variabilité de la performance est observée selon le type de trousse.

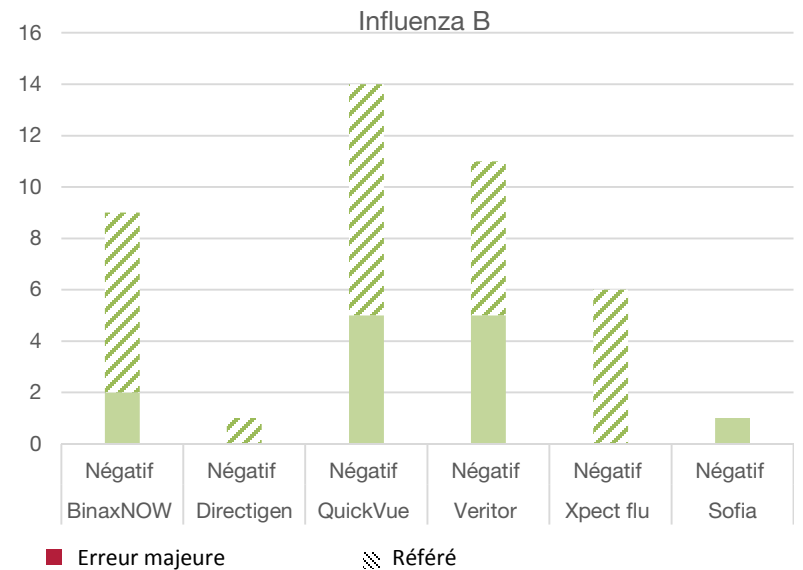
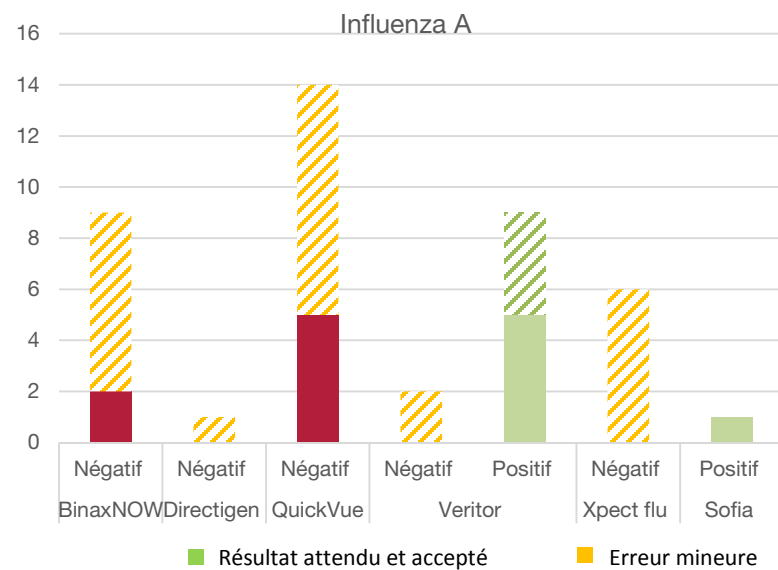
Les résultats détaillés pour chacune des trousse pour les cinq spécimens sont présentés en annexe (tableau 7).

**Figure 2 Résultats des participants pour la détection des virus de l'influenza A et B par TRDI selon le type de trousse utilisée pour les spécimens 19161101 et 19161104.**

19161101



19161104



## Algorithme de travail

Dans le cadre de ce CEQ, les laboratoires effectuant des TRDI devaient indiquer, en fonction du résultat obtenu et de leur algorithme de travail habituel, si le spécimen aurait été référé ou non pour une analyse supplémentaire par TAAN et, si oui, à quelle période de la saison des virus respiratoires (en début de saison, en fin de saison ou en tout temps). Les résultats sont compilés au tableau 3. Lorsque le résultat du TRDI est négatif, 33,3 % des laboratoires ont répondu qu'ils n'auraient pas référé les spécimens pour un TAAN. Plusieurs d'entre eux ont précisé qu'en routine, les spécimens sont référés pour un TAAN lorsqu'il s'agit d'un patient hospitalisé, aux soins intensifs, en CHSLD ou sur demande.

Une augmentation de la proportion des laboratoires qui réfèrent les spécimens négatifs est observée par rapport au précédent contrôle de mars 2016 qui était de 50 %.

**Tableau 3 Algorithme des laboratoires pour les spécimens négatifs et positifs par TRDI**

| Réfère pour un TAAN            | Résultat TRDI négatif | Résultat TRDI positif |
|--------------------------------|-----------------------|-----------------------|
| Non                            | 33,3 %                | 56,8 %                |
| Oui, en début de saison        | 9,5 %                 | 22,4 %                |
| Oui, en début et fin de saison | 4,8 %                 | 11,2 %                |
| Oui, en tout temps             | 52,4 %                | 9,6 %                 |

## TAAN

Les trousseuses utilisées par les laboratoires participants sont sensiblement les mêmes que celles utilisées lors du dernier contrôle de mars 2016. Une nouvelle trousse, Alere™ i Influenza A & B a remplacé la trousse RIDA® GENE Flu de Biopharm.

**Tableau 4 Trousseuses utilisées pour la détection des virus de l'influenza par TAAN**

| Trousseuses TAAN                                        | Nombre de laboratoires |
|---------------------------------------------------------|------------------------|
| Alere™ i Influenza A & (Alere)                          | 1                      |
| Protocole maison <sup>a</sup>                           | 6                      |
| Seeplex RV15 OneStep ACE Detection (Seegene Inc.)       | 1                      |
| Simplexa Flu A/B & RSV Direct (Focus diagnostics, inc.) | 12                     |
| Xpert FLU <sup>b</sup> (GeneXpert system-Cepheid)       | 9                      |
| <b>TOTAL</b>                                            | <b>29</b>              |

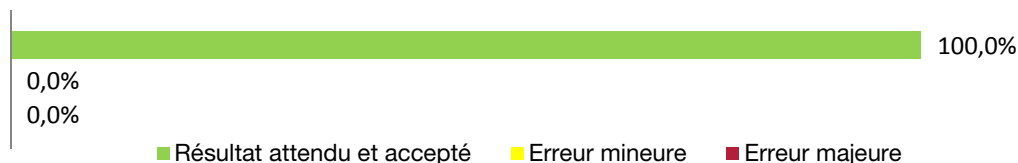
<sup>a</sup> Protocole maison inclut : protocole maison (n=2), protocole LSPQ (Protocole CDC version 2005) (n=1), LightCycler Multiplex RNA Virus master (Roche) (n=1) et la trousse QuantiTect Virus de Qiagen (n=2).

<sup>d</sup> Inclut Xpert FLU et Xpert FLU RSV XC.



La performance des laboratoires qui utilisent un TAAN pour la détection des virus de l'influenza A et B s'est avérée excellente avec 100 % de résultats attendus pour les cinq spécimens envoyés (figure 3).

**Figure 3 Performance des laboratoires pour la détection des virus de l'influenza A et B par des TAAN (n=29)**



La performance globale des laboratoires pour les TAAN est présentée pour les cinq spécimens (19161101 à 19161105).

Les valeurs de Ct ou Cp (*threshold cycle* ou *crossing point*) pour les spécimens contenant un virus de l'influenza A (19161102, 19161104 et 19161105) et un virus de l'influenza B (19161101) ont été rapportées par 26 des 29 laboratoires participants (tableau 5).

**Tableau 5 Valeurs de Ct ou Cp obtenues par les participants**

| Spécimens | Intervalle du groupe | Moyenne | Médiane |
|-----------|----------------------|---------|---------|
| 19161101  | 23,08 à 31,1         | 27,70   | 27,80   |
| 19161102  | 20,98 à 27,01        | 23,87   | 24,10   |
| 19161104  | 24,23 à 31,03        | 28,11   | 28,50   |
| 19161105  | 20,91 à 26,75        | 23,90   | 24,28   |

La valeur de Ct ou Cp diffère selon la méthodologie employée par chaque laboratoire. Elle est inversement proportionnelle à la quantité initiale de cibles géniques dans l'échantillon.

**Tableau 6 Sous-types obtenus par TAAN**

| Spécimens | Sous-type par TAAN   | Total |
|-----------|----------------------|-------|
| 19161102  | H3N2                 | 3     |
|           | Autre que H1N1       | 1     |
|           | Absence du 2009 H1N1 | 1     |
|           | Indéterminé          | 1     |
| 19161104  | H3N2                 | 3     |
|           | Autre que H1N1       | 1     |
|           | Absence du 2009 H1N1 | 1     |
|           | Indéterminé          | 1     |
| 19161105  | H1N1pdm 2009         | 8     |

Les résultats d'identification du sous-type pour les spécimens positifs pour l'influenza A sont présentés au tableau 6. Les données indiquent qu'un nombre restreint de laboratoires peuvent identifier le sous-type des virus de l'influenza A, et que les résultats qu'ils génèrent sont exacts.

## Conclusion

La saison épidémique 2016-2017 de la grippe s'est présentée pendant la période des Fêtes, avec un pic d'infections par le virus de l'influenza A au mois de janvier encore en cours à la mi-février. La très grande majorité des souches d'influenza A caractérisées ont été identifiées comme appartenant au sous-type A (H3N2). En date du 10 février 2017, seulement quelques cas d'infections par le virus de l'influenza B avaient été détectés, conformément à la tendance observée au cours des dernières années, soit d'atteindre le pic de grippe B vers la fin de l'hiver.

Ce contrôle externe de la qualité pour la détection des virus de l'influenza A et B présente les résultats générés par des TRDI et des TAAN. La présence du virus de l'influenza a été détectée par l'ensemble des laboratoires utilisant un TRDI pour deux des quatre spécimens positifs. Ceux-ci contenaient les charges virales les plus élevées avec une valeur de Ct d'environ 24. Toutefois, les résultats obtenus pour les deux spécimens qui contenaient une charge virale plus faible, avec une valeur de Ct d'environ 28, démontrent que les TRDI ont une moins bonne sensibilité que les TAAN. Cependant, les résultats obtenus par les TRDI ont démontré une spécificité parfaite.

Lors de ce contrôle, 52,4 % des laboratoires qui utilisent un TRDI auraient acheminé tous leurs échantillons négatifs pour un TAAN. Ceci constitue une augmentation par rapport au dernier contrôle où seulement 37,5 % des laboratoires référaient les échantillons négatifs pour un TAAN. Cette pratique réduit le nombre de résultats faussement négatifs, mais retarde le temps réponse au médecin traitant. La moitié des laboratoires ont cependant indiqué qu'ils n'achemineraient pas un échantillon négatif pour un TAAN bien que certains ont précisé en commentaires qu'un TAAN serait effectué pour un patient à risque (hospitalisé, aux soins intensifs, CHSLD, obstétrique, etc.) ou sur demande. Les laboratoires qui n'ont pas été en mesure de détecter la présence de virus dans les spécimens qui en contenaient et qui n'auraient pas référé les spécimens pour un TAAN se sont vu attribuer une erreur majeure.

La performance des laboratoires qui utilisent les méthodes de détection des virus de l'influenza par TAAN est parfaite avec 100 % de résultats attendus. Il faut souligner que depuis la saison dernière, un plus grand nombre de laboratoires sont dotés de trousse TAAN pour la détection de virus respiratoires, incluant l'influenza. Peu de laboratoires sont en mesure de déterminer le sous-type des virus de l'influenza A, mais ceux qui l'ont fait ont tous rapporté les sous-types exacts.

Par ce contrôle, le LSPQ répond à son mandat d'assurer la qualité des analyses offertes pour la détection de l'ARN des virus de l'influenza A et B par les laboratoires qui effectuent des TRDI et des TAAN. Un prochain envoi de spécimens pour un CEQ Influenza aura lieu à la fin de l'année 2017 en prévision de la saison 2017-2018.

## Références

1. Agence de santé publique du Canada. 2017. Surveillance de l'influenza. Rapport hebdomadaire.
2. <http://canadiensensante.gc.ca/diseases-conditions-maladies-affections/disease-maladie/flu-grippe/surveillance/fluwatch-reports-rapports-surveillance-influenza-fra.php>
3. Atmar R, Lindstrom S. 2015. Influenza Viruses, p 1470-1486. In Jorgensen J, Pfaller M, Carroll K, Funke G, Landry M, Richter S, Warnock D (ed), Manual of Clinical Microbiology, Eleventh Edition. ASM Press, Washington, DC.
4. Hurt AC, Alexander R, Hibbert J et al. 2007. Performance of six influenza rapid tests in detecting human influenza in clinical specimens. J Clin Virol 39:132-135.
5. Institut national de santé publique du Québec. Portail du système de collecte des données pour la surveillance de l'influenza et des infections respiratoires. Consulté le 2017-02-10.

## Annexe

Le tableau 7 présente le sommaire des résultats obtenus pour la détection des virus de l'influenza A et B par des tests rapides de détection d'influenza (TRDI) et des tests d'amplification d'acides nucléiques (TAAN) pour chacune des trousse utilisées.

**Tableau 7 Résultats des participants pour la détection des virus de l'influenza A et B par TRDI et TAAN<sup>a</sup>**

| Type d'analyse<br>Trousse utilisée                      | 19161101 |     |     |         |     | 19161102 |     |         |     |
|---------------------------------------------------------|----------|-----|-----|---------|-----|----------|-----|---------|-----|
|                                                         | INFLU A  |     |     | INFLU B |     | INFLU A  |     | INFLU B |     |
| TDRI (42) <sup>b</sup>                                  | POS      | IND | NEG | POS     | NEG | POS      | NEG | POS     | NEG |
| BinaxNOW Influenza A & B Card (Alere)                   |          | 1   | 8   | 5       | 4   | 9        |     |         | 9   |
| Directigen™ EZ Flu A+B (BD Diagnostics)                 |          |     | 1   |         | 1   | 1        |     |         | 1   |
| QuickVue Influenza A+B Test (Quidel)                    |          |     | 14  | 13      | 1   | 14       |     |         | 14  |
| Sofia Influenza A+ B FIA (Quidel)                       |          |     | 1   | 1       |     | 1        |     |         | 1   |
| Veritor™ System (BD Diagnostics)                        |          |     | 11  | 11      |     | 11       |     |         | 11  |
| Xpect™ Flu A&B (Remel)                                  |          |     | 6   | 4       | 2   | 6        |     |         | 6   |
| <b>TOTAL</b>                                            |          | 1   | 41  | 34      | 8   | 42       |     |         | 42  |
| TAAN (28)                                               | POS      | NEG |     | POS     | NEG | POS      | NEG | POS     | NEG |
| Influenza A & B (Alere TM i)                            |          | 1   |     | 1       |     | 1        |     |         | 1   |
| Protocole maison <sup>c</sup>                           |          | 6   |     | 6       |     | 6        |     |         | 6   |
| Seeplex RV15 OneStep ACE Detection (Seegene Inc.)       |          | 1   |     | 1       |     | 1        |     |         | 1   |
| Simplexa Flu A/B & RSV Direct (Focus diagnostics, inc.) |          | 12  |     | 12      |     | 12       |     |         | 12  |
| Xpert FLU (GeneXpert system-Cepheid)                    |          | 8   |     | 8       |     | 8        |     |         | 8   |
| <b>TOTAL</b>                                            |          | 28  |     | 28      |     | 28       |     |         | 28  |

## Suite

| Type d'analyse<br>Trousse utilisée                      | 19161103 |           |         |           | 19161104  |           |          |     | 19161105  |           |          |          |           |
|---------------------------------------------------------|----------|-----------|---------|-----------|-----------|-----------|----------|-----|-----------|-----------|----------|----------|-----------|
|                                                         | INFLU A  |           | INFLU B |           | INFLU A   |           | INFLU B  |     | INFLU A   |           |          | INFLU B  |           |
| TDRI (42) <sup>b</sup>                                  | POS      | NEG       | POS     | NEG       | POS       | NEG       | POS      | NEG | POS       | NEG       | IND      | POS      | NEG       |
| BinaxNOW Influenza A & B Card (Alere)                   |          | 9         |         | 9         |           | 7         | 2        |     | 9         | 9         |          |          | 9         |
| Directigen™ EZ Flu A+B (BD Diagnostics)                 |          | 1         |         | 1         |           | 1         |          |     | 1         | 1         |          |          | 1         |
| QuickVue Influenza A+B Test (Quidel)                    |          | 14        |         | 14        |           | 9         | 5        |     | 14        | 14        |          |          | 14        |
| Veritor™ System (BD Diagnostics)                        |          | 11        |         | 11        | 9         | 2         |          |     | 11        | 11        |          |          | 11        |
| Xpect™ Flu A&B (Remel)                                  |          | 6         |         | 6         |           | 6         |          |     | 6         | 3         | 2        | 1        | 5         |
| Sofia Influenza A+ B FIA (Quidel)                       |          | 1         |         | 1         | 1         |           |          |     | 1         | 1         |          |          | 1         |
| <b>TOTAL</b>                                            |          | <b>42</b> |         | <b>42</b> | <b>10</b> | <b>25</b> | <b>7</b> |     | <b>42</b> | <b>39</b> | <b>2</b> | <b>1</b> | <b>41</b> |
| TAAN (28)                                               | POS      | NEG       | POS     | NEG       | POS       | NEG       | POS      | NEG | POS       | NEG       | POS      | NEG      |           |
| Influenza A & B (Alere TM i)                            |          | 1         |         | 1         | 1         |           |          |     | 1         | 1         |          |          | 1         |
| Protocole maison <sup>c</sup>                           |          | 6         |         | 6         | 6         |           |          |     | 6         | 6         |          |          | 6         |
| Seeplex RV15 OneStep ACE Detection (Seegene Inc.)       |          | 1         |         | 1         | 1         |           |          |     | 1         | 1         |          |          | 1         |
| Simplexa Flu A/B & RSV Direct (Focus diagnostics, inc.) |          | 12        |         | 12        | 12        |           |          |     | 12        | 12        |          |          | 12        |
| Xpert FLU <sup>d</sup> (GeneXpert system-Cepheid)       |          | 9         |         | 9         | 8         |           |          |     | 8         | 8         |          |          | 8         |
| <b>TOTAL</b>                                            |          | <b>29</b> |         | <b>29</b> | <b>28</b> |           |          |     | <b>28</b> | <b>28</b> |          |          | <b>28</b> |

<sup>a</sup> TRDI : test rapide de détection d'influenza, TAAN : test d'amplification d'acides nucléiques, INFLU A : virus de l'influenza A, INFLU B : virus de l'influenza B, POS : positif, NEG : négatif, IND : indéterminé.

<sup>b</sup> Une erreur majeure a été attribuée aux laboratoires qui ont faussement rapporté un spécimen négatif par TRDI et qui n'auraient pas référé le spécimen pour un TAAN.

<sup>c</sup> Protocole maison inclut : protocole maison (n=2), protocole LSPQ (Protocole CDC version 2005) (n=1), LightCycler Multiplex RNA Virus master (Roche) (n=1) et la trousse QuantiTect Virus de Qiagen (n=2).

<sup>d</sup> Inclut Xpert FLU et Xpert FLU RSV XC.