

Groupe Agents Transmissibles par Transfusion

- Valérie BARLET (E.F.S. Rhône-Alpes, Metz-Tessy)
- Jean-Philippe DESLYS (CEA, Fontenay-aux-Roses)
- Marie-Hélène EL GHOUZZI (E.F.S. Ile de France, Rungis)
- Syria LAPERCHE (I.N.T.S.)
- Françoise LE VACON (E.F.S. Bretagne, Rennes)
- Françoise LUNEL (C.H.U. Angers)
- Pascale MAISONNEUVE (AFSSaPS)
- Michèle MANIEZ (E.F.S. Nord de France, Lille)
- Pascal MOREL (E.F.S. Bourgogne Franche-Comté, Dijon)
- Laurence MOUILLOT (AFSSaPS)
- Josiane PILLONEL (InVs)
- Yves PIQUET (E.F.S. Aquitaine-Limousin, Bordeaux)
- Christian TREPO (Inserm, Lyon)

CONTRÔLE DE PREMIER NIVEAU DES REACTIFS DE SEROLOGIE POUR LA QUALIFICATION BIOLOGIQUE DES DONNS (QBD)

Pour le groupe **GATT**

Michèle MANIEZ

E.F.S. Nord de France

Les outils créés par l'E.F.S. Nord de France (1)

- ❖ 7 panels de 6 à 7 échantillons couvrant les marqueurs suivants :

Panel	Nombre	Nombre éch.	Trousses concernées / Caractéristiques
E.F.S. Ag HBs	1	6	PRISM - MONOLISA ULTRA
E.F.S. Ac HBc	1	7	PRISM - MONOLISA PLUS
E.F.S. Ac HCV	1	6	PRISM - ORTHO
E.F.S. Ac HIV	1	6	PRISM
	1		GENSCREEN ULTRA
E.F.S. Ac HTLV	1	6	PRISM - MUREX
E.F.S. Ac CMV	1	6	BIOKIT

Les outils créés par l'E.F.S. Nord de France (1)

- ❖ 7 panels de 6 à 7 échantillons couvrant les marqueurs suivants : (prochaine diapositive)

Les données recueillies auprès des plateaux de QBD sont analysées : calculs de la moyenne et écart-type.

Les outils créés par l'E.F.S. Nord de France (2)

- ❖ 10 gammes de dilution (8 points) :
anti-VIH (1 et 2), Ag-VIH (500 à 7,8 pg / ml),
anti-HTLV (1 et 2), anti-VHC (Core et NS3),
Ag-HBs (2,21 à 0,03 ng / ml), anti-HBc, anti-CMV

Élaboration d'une gamme de référence à partir du quatrième lot de réactif. Après chaque lot testé, la référence est incrémentée.

Les outils créés par l'E.F.S. Nord de France (3)

- ❖ **Contrôles de Run Sérologiques multiparamétriques**
 - ✓ **CRS Poly** (Prism) avec 5 marqueurs :
anti-VIH, anti-HTLV, Ag HBs, anti-HBc, anti-VHC
 - ✓ **CRS CPM** (Microplaque) avec 6 marqueurs :
anti-VIH, anti-HTLV, Ag HBs, anti-HBc, anti-VHC,
anti-CMV

Tous ces outils tiennent compte de la sensibilité en dilution des réactifs contrôlés (importance de connaître au plus tôt les réactifs retenus au marché)

Sensibilité en dilution

✓ Pour les réactifs avec un **seul marqueur** cible, la **sensibilité** observée sur les dilutions sera le **reflet de la sensibilité analytique**.

Ex : Ag HBs, Ag VIH, anti-HBc

✓ Pour les réactifs avec **plusieurs marqueurs** cibles,

la sensibilité observée en dilution sera **fonction du niveau de reconnaissance des spécificités anticorpsales résiduelles**.

Ex: anti-VIH, anti-VHC, anti-HTLV

Mise en œuvre de ces outils dans le cadre du contrôle de premier niveau

Réalisé depuis 2004 par l'E.F.S. Nord de France pour les trousseaux de Qualification Biologique du Don avant leur livraison sur site :

✓ Résultats comparés :

a) aux critères attendus pour les différents échantillons des panels : $m \pm 2$ et 3 écarts-types, et

b) à la gamme de référence

✓ Conformité déclarée ou non \Rightarrow libération ou non du lot pour distribution dans les E.F.S.

Contrôle 1er niveau AcHTLV :
Abbott Murex HTLV I/II

Lot : **L023810**
date réception : 30/05/2007
date péremption : 31/03/2008

méthode semi automatique
Dépôt: Hamilton AT+
Lavage: MRW
Lecture: IEMS

Validation du test :

	DO moy	critères	validation
contrôle négatif :	0,077	DO < 0,2	oui
contrôle positif :	1,648	DO > N + 0,8	oui

Résultats du CRS CPM en intra-essai:

Lot 2601161 : Ratio: 1,252 (n = 16)

Résultats du panel de contrôle de lot :

Lot du panel EFS AcHTLV : 04

	HTLV-I			HTLV-II		négatif
	N°1	N°2	N°3	N°4	N°5	N°6
Ratio 1	2,873	7,308	5,733	5,461	2,949	0,307
Ratio 2	3,322	7,688	5,353	6,155	3,286	0,260
Ratio moyen	3,10	7,50	5,54	5,81	3,12	0,28

Résultats moyennés interlots intersites : 33 valeurs, 17 lots, 5 sites

	HTLV-I			HTLV-II		négatif
	N°1	N°2	N°3	N°4	N°5	N°6
R moyen	3,96	7,13	5,83	6,48	3,68	0,24
écart type ET	0,77	1,10	0,79	0,79	0,59	0,05
moy - 2ET	2,41	4,93	4,26	4,91	2,49	0,14
moy - 1ET	3,18	6,03	5,04	5,70	3,09	0,19
moy + 1ET	4,73	8,22	6,61	7,27	4,27	0,29
moy + 2ET	5,50	9,32	7,40	8,06	4,86	0,34

Gammes de dilutions AcHTLV pour contrôle de 1er niveau :

	dilution à ratio R = 1	
	Gamme HTLV I	Gamme HTLV II
Référence	76,15	16,45
Contrôle	77,98	14,70

Ex : anti-HTLV

HTLV I

Contrôle 10 (03/10/2006)

Murex Abbott HTLV (lot n°J230110)

Résultats du panel de contrôle de lot :

Lot conforme

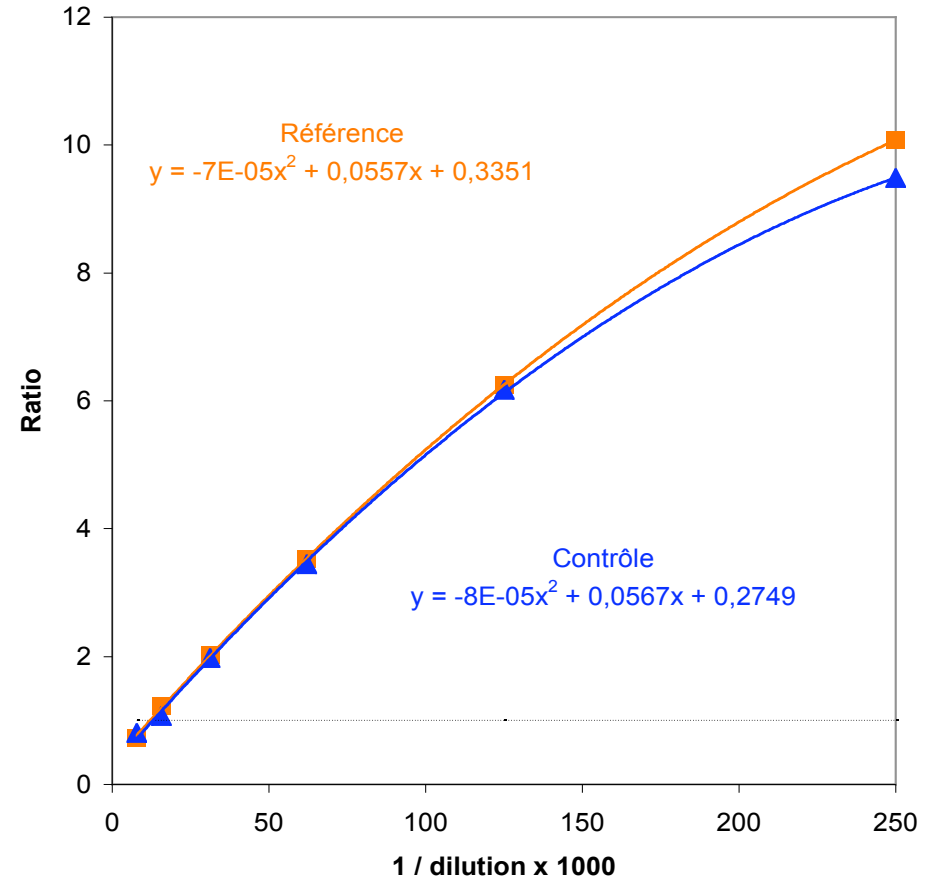
Lot du panel EFS AchTLV : 04

	HTLV-I			HTLV-II		négatif
	N°1	N°2	N°3	N°4	N°5	
Ratio 1	3,62	7,57	5,67	5,93	3,51	/
Ratio 2	3,73	6,84	5,78	6,41	3,79	0,28
Ratio moyen	3,67	7,20	5,73	6,17	3,65	0,28

Résultats moyennés interlots intersites :

	HTLV-I			HTLV-II		négatif
	N°1	N°2	N°3	N°4	N°5	
R moyen	4,02	7,06	5,78	6,50	3,68	0,21
écart type ET	0,85	0,83	0,96	0,89	0,75	0,04

moy - 2ET	2,32	5,40	3,86	4,72	2,18	0,13
moy - 1ET	3,17	6,23	4,82	5,61	2,93	0,17
moy + 1ET	4,87	7,89	6,74	7,39	4,43	0,25
moy + 2ET	5,72	8,72	7,70	8,28	5,18	0,29



■ référence ; dilution à R = 1 : 82,50
▲ Contrôle 10 ; dilution à R = 1 : 76,76

Ex : anti-HTLV

HTLV II

Contrôle 10(03/10/2006)

Murex Abbott HTLV (lot n°J230110)

Résultats du panel de contrôle de lot :

Lot conforme

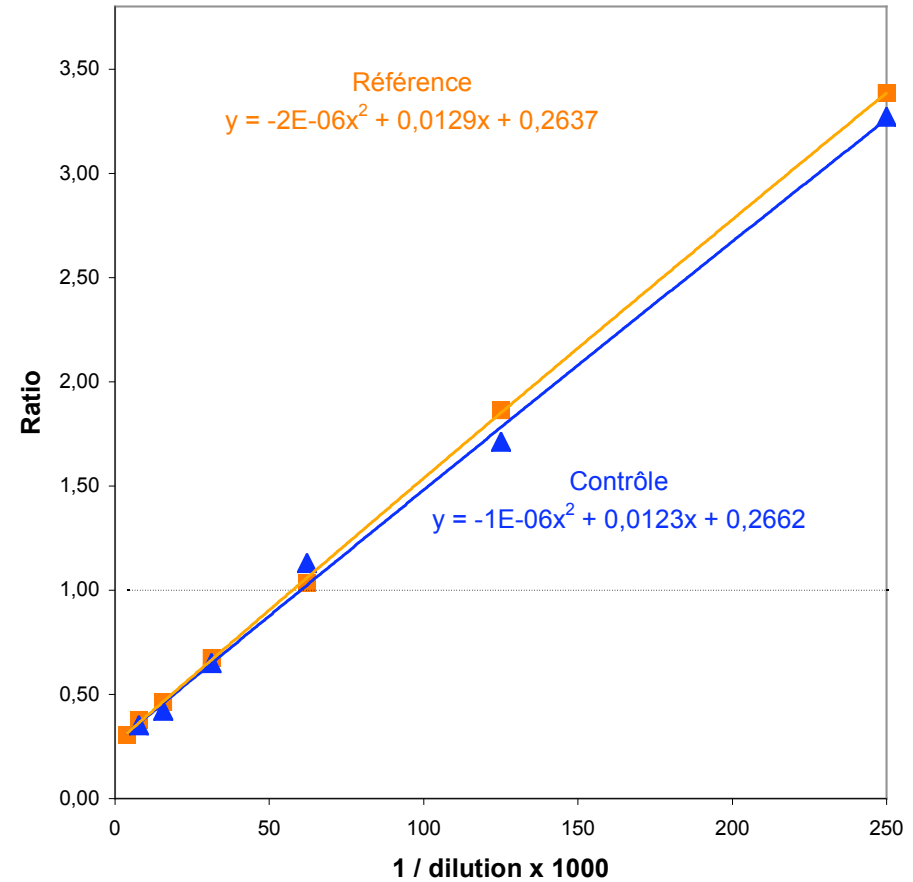
Lot du panel EFS AchTLV : 04

	HTLV-I			HTLV-II		négatif
	N°1	N°2	N°3	N°4	N°5	N°6
Ratio 1	3,62	7,57	5,67	5,93	3,51	/
Ratio 2	3,73	6,84	5,78	6,41	3,79	0,28
Ratio moyen	3,67	7,20	5,73	6,17	3,65	0,28

Résultats moyennés interlots intersites :

	HTLV-I			HTLV-II		négatif
	N°1	N°2	N°3	N°4	N°5	N°6
R moyen	4,02	7,06	5,78	6,50	3,68	0,21
écart type ET	0,85	0,83	0,96	0,89	0,75	0,04

moy - 2ET	2,32	5,40	3,86	4,72	2,18	0,13
moy - 1ET	3,17	6,23	4,82	5,61	2,93	0,17
moy + 1ET	4,87	7,89	6,74	7,39	4,43	0,25
moy + 2ET	5,72	8,72	7,70	8,28	5,18	0,29



■ référence ; dilution à R = 1 : 17,36
▲ Contrôle 10 ; dilution à R = 1 : 16,68

Ex : anti-HTLV

HTLV I

Contrôle 14 (12/04/2007)

Murex Abbott HTLV (lot n°J263710)

Résultats du panel de contrôle de lot :

Lot non conforme

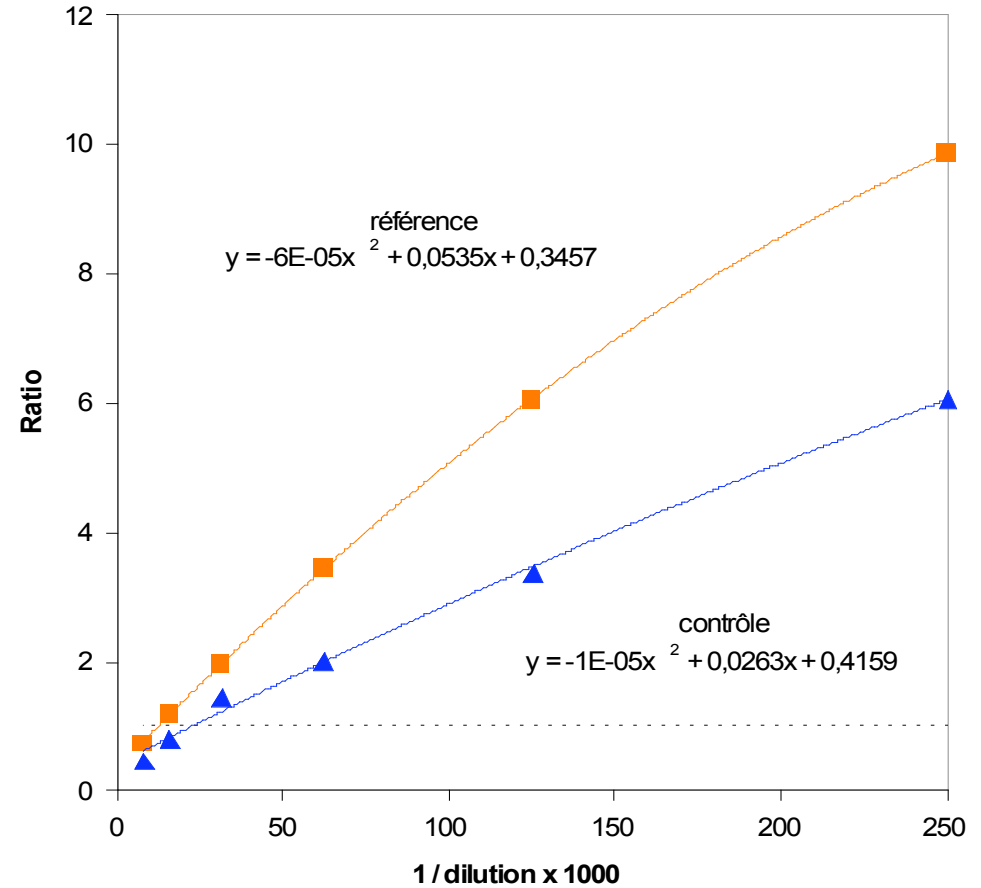
Lot du panel EFS AcHTLV : 04

	HTLV-I			HTLV-II		négatif
	N°1	N°2	N°3	N°4	N°5	N°6
Ratio 1	1,59	4,793	3,109	3,23	1,593	0,209
Ratio 2	1,992	4,774	3,159	3,109	2,094	0,42
Ratio moyen	1,79	4,78	3,13	3,17	1,84	0,31

	HTLV-I			HTLV-II		négatif
	N°1	N°2	N°3	N°4	N°5	N°6
R moyen	3,96	7,22	5,85	6,48	3,68	0,24
écart type ET	0,81	0,84	0,81	0,78	0,61	0,05

moy - 3ET	1,53	4,71	3,43	4,13	1,85	0,08
moy - 2ET	2,34	5,54	4,23	4,91	2,46	0,13
moy - 1ET	3,15	6,38	5,04	5,69	3,07	0,18
moy + 1ET	4,78	8,05	6,66	7,26	4,29	0,29
moy + 2ET	5,59	8,89	7,47	8,04	4,90	0,34

Résultats moyennés interlots intersites : 28 valeurs provenant de 15 lots et 5 sites utilisateurs



- référence ; dilution à R = 1 : 80,63
- ▲ Contrôle 14 ; dilution à R = 1 : 44,64

Ex : anti-HTLV

HTLV II

Contrôle 14(12/04/2007)

Murex Abbott HTLV (lot n°J263710)

Résultats du panel de contrôle de lot :

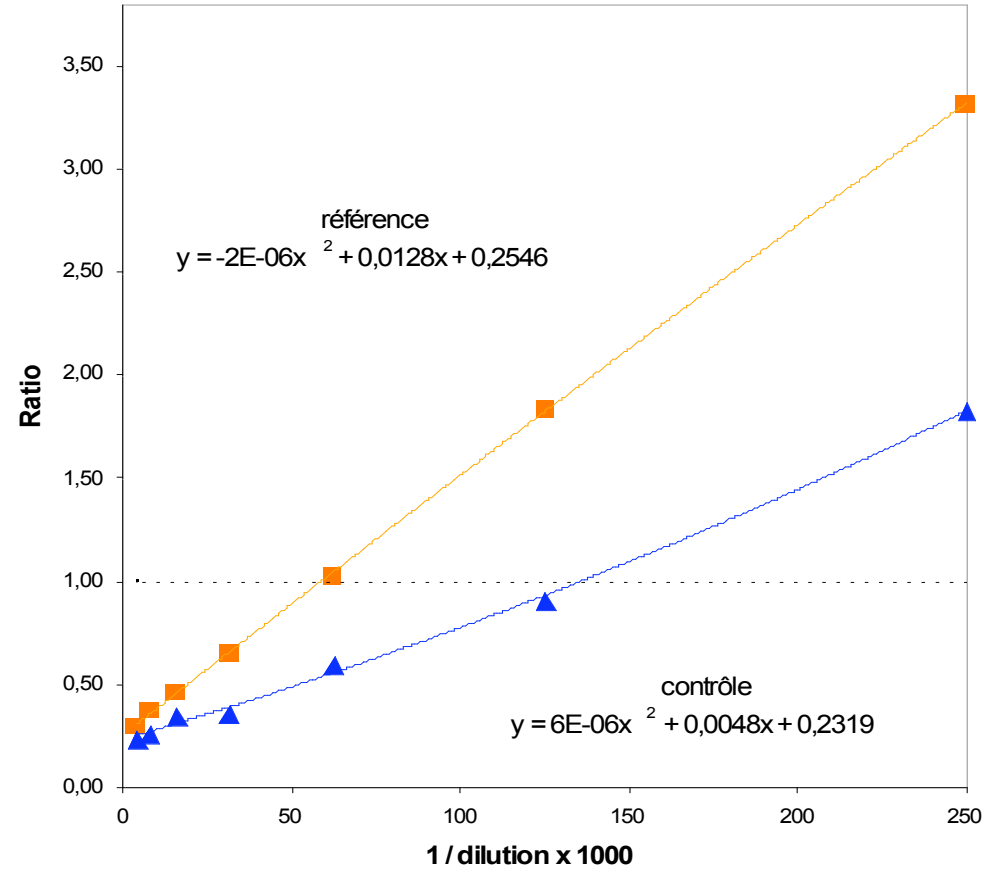
Lot non conforme

Lot du panel EFS AchTLV : 04

	HTLV-I			HTLV-II		négatif
	N°1	N°2	N°3	N°4	N°5	N°6
Ratio 1	1,59	4,793	3,109	3,23	1,593	0,209
Ratio 2	1,992	4,774	3,159	3,109	2,094	0,42
Ratio moyen	1,79	4,78	3,13	3,17	1,84	0,31

	HTLV-I			HTLV-II		négatif
	N°1	N°2	N°3	N°4	N°5	N°6
R moyen	3,96	7,22	5,85	6,48	3,68	0,24
écart type ET	0,81	0,84	0,81	0,78	0,61	0,05

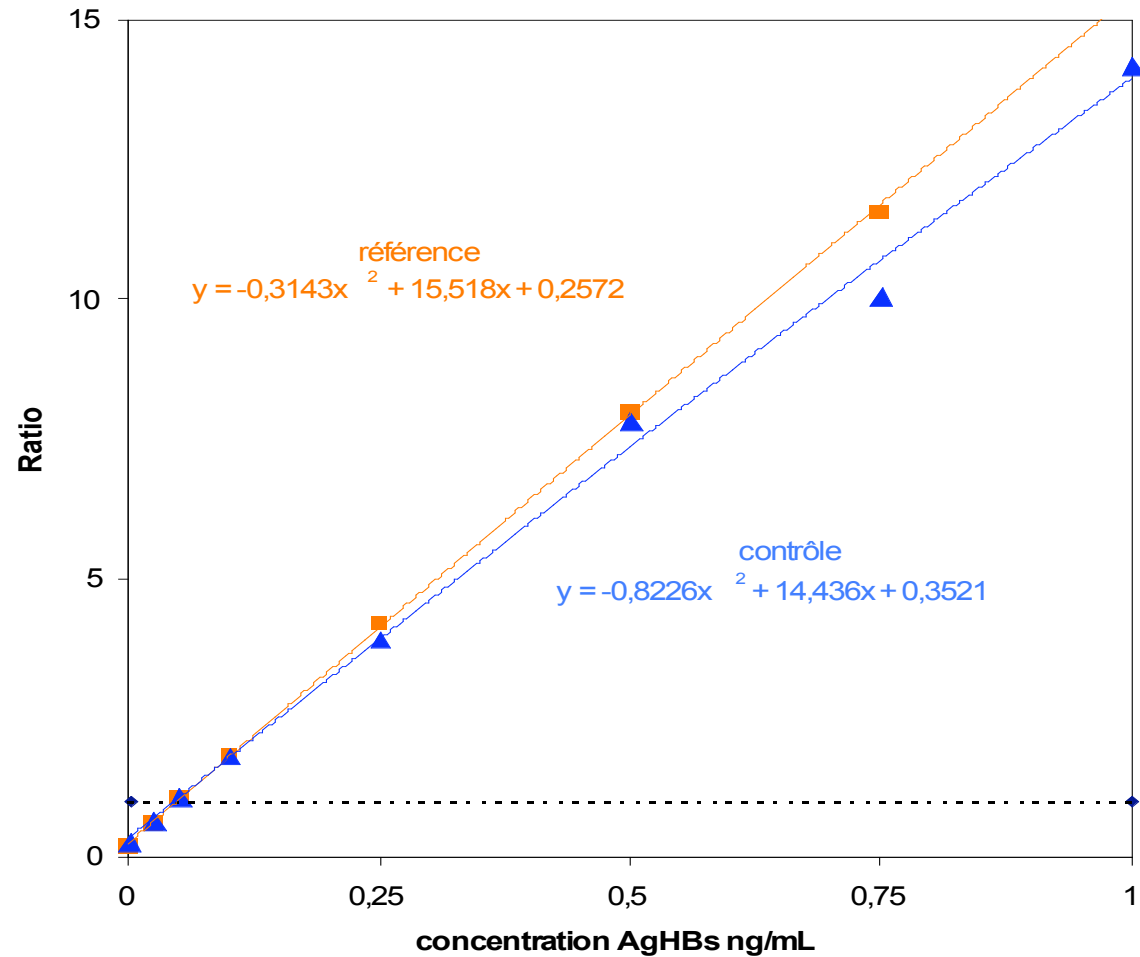
moy - 3ET	1,53	4,71	3,43	4,13	1,85	0,08
moy - 2ET	2,34	5,54	4,23	4,91	2,46	0,13
moy - 1ET	3,15	6,38	5,04	5,69	3,07	0,18
moy + 1ET	4,78	8,05	6,66	7,26	4,29	0,29
moy + 2ET	5,59	8,89	7,47	8,04	4,90	0,34



- référence - dilution à R = 1 : 17,01
- ▲ Contrôle 14 ; dilution à R = 1 : 7,32

Résultats moyennés interlots intersites : 28 valeurs provenant de 15 lots et 5 sites utilisateurs

AgHBs
Monolisa HBsAg Ultra
Contrôle du 21/08/2008
lot 8H0563

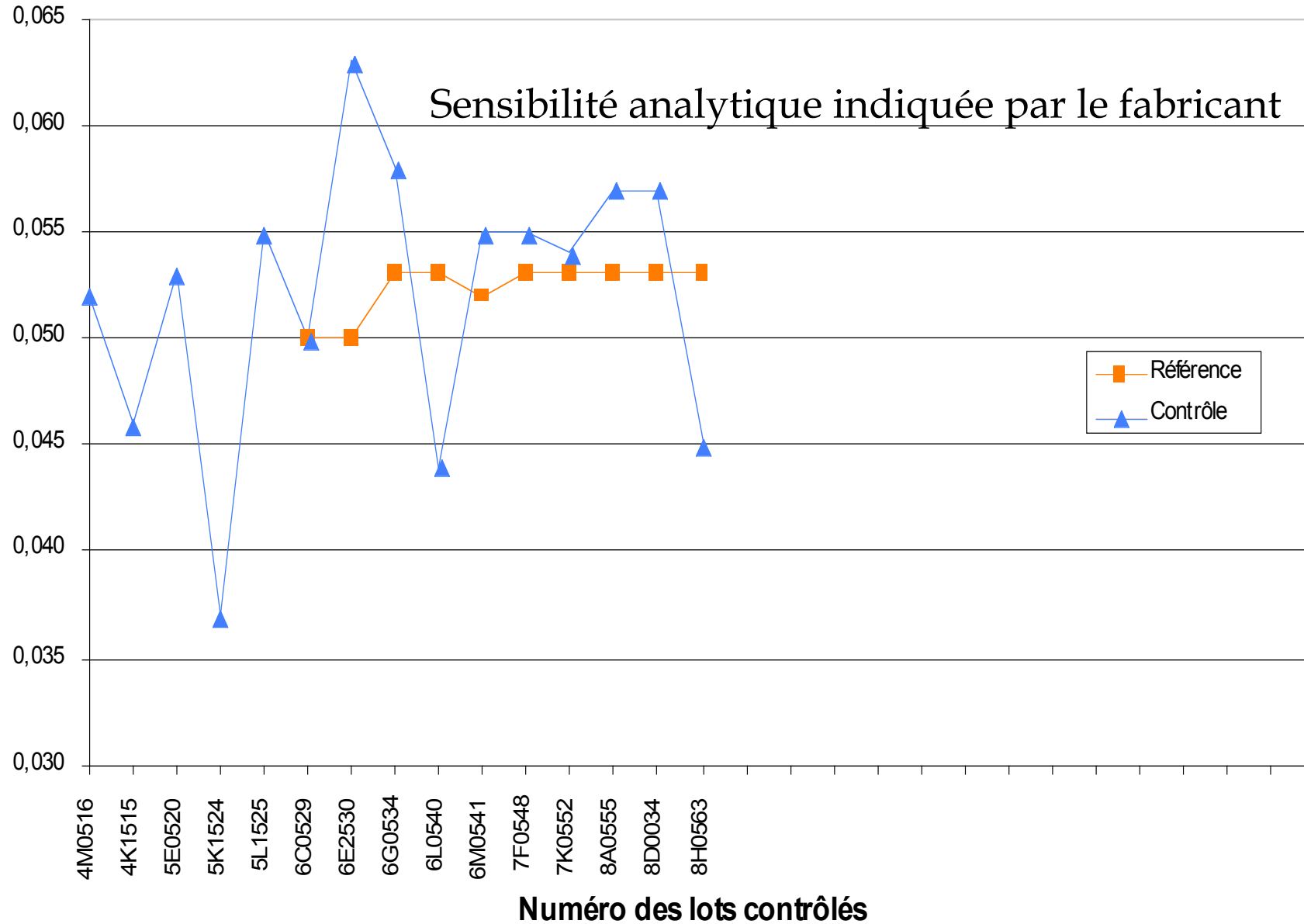


■ Référence - Seuil de détection à R = 1 : 0,048 ng/mL

▲ lot 8H0563 - Seuil de détection à R = 1 : 0,045ng/mL

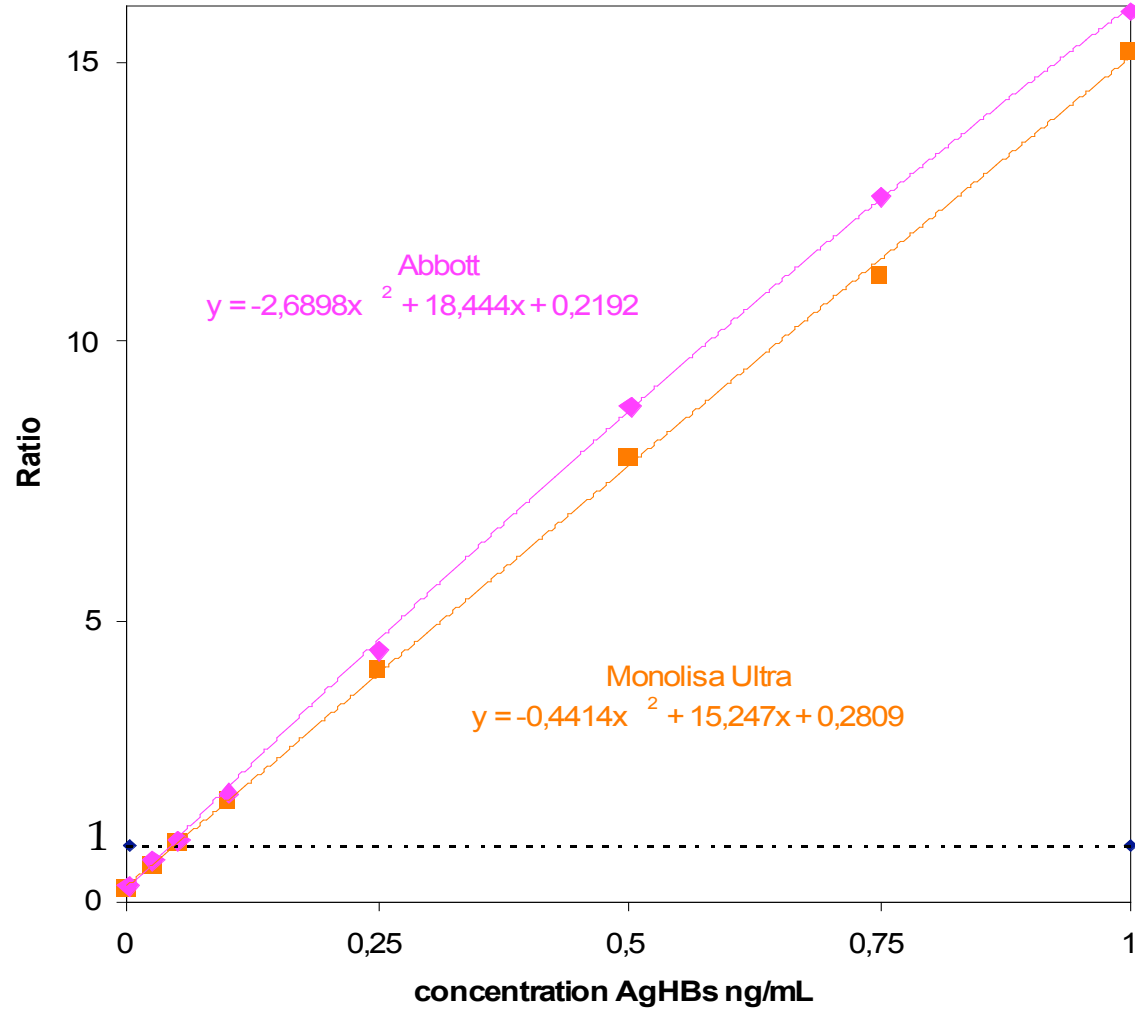
Suivi Ag HBS Monolisa Ultra

Seuil de détection à R=1
en ng/ml



AgHBs

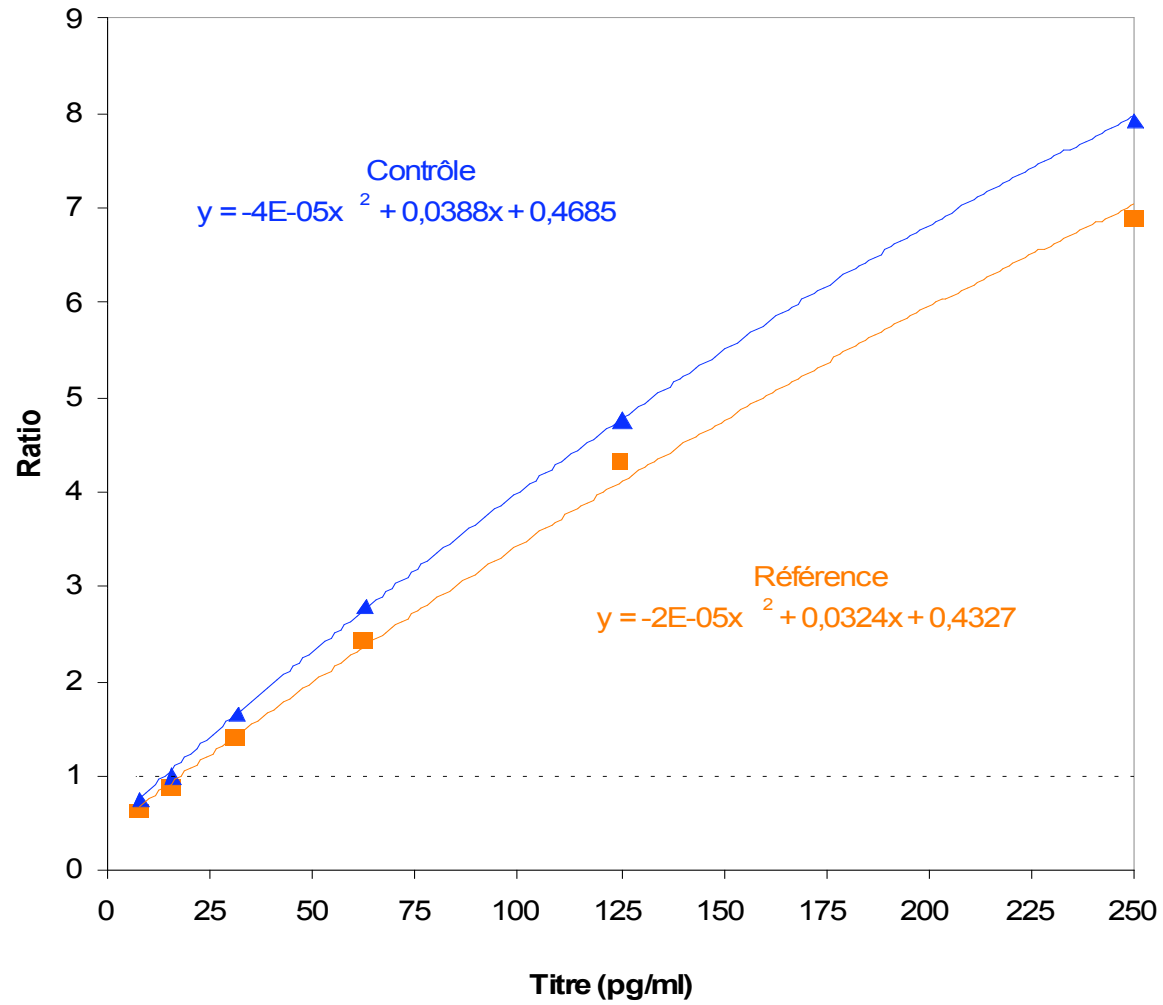
Limite de détection à R = 1
calculée à partir des références



■ Réactif Monolisa Ultra : 0,047 ng/mL

◆ Réactif Abbott : 0,043 ng/mL

Ag VIH
contrôle du 17/03/2008
Genscreen Ultra lot 8A0548



■ Référence - seuil de détection = 17,70 pg/ml
▲ 8A0548 - seuil de détection = 13,90 pg/ml

Ex : CMV

Résultats du panel de contrôle de lot : **Lot conforme**

Contrôle du 02/09/2008
CMV BIOKIT
lot E2708

Lot du panel EFS CMV : 2

	CMV 1	CMV 2	CMV 3	CMV 4	CMV 5	CMV 6
Ratio 1	4,64	2,57	1,43	0,25	3,72	1,88
Ratio 2	4,53	2,51	1,54	0,18	3,64	1,87
Ratio moyen	4,59	2,54	1,49	0,22	3,68	1,88

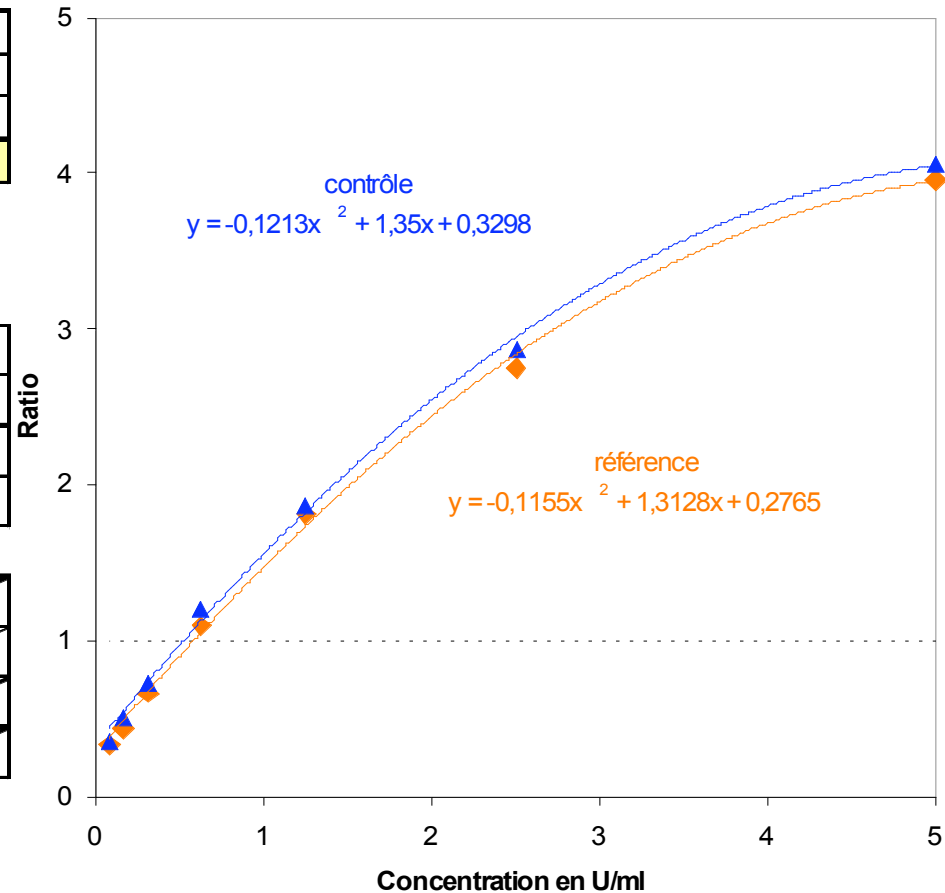
Résultats moyennés interlots intersite 5 valeurs, 2 lots, 3 sites

	IgM	IgM	IgG	neg	IgG	IgG
	CMV 1	CMV 2	CMV 3	CMV 4	CMV 5	CMV 6
R moyen	4,24	2,71	1,81	0,20	3,67	2,15
écart type ET	0,42	0,19	0,24	0,03	0,31	0,25

moy - 2ET	/	/	/	/	/	/
moy - 1ET	/	/	/	/	/	/
moy + 1ET	/	/	/	/	/	/
moy + 2ET	/	/	/	/	/	/

Gamme de dilutions CMV pour contrôle de 1er niveau:

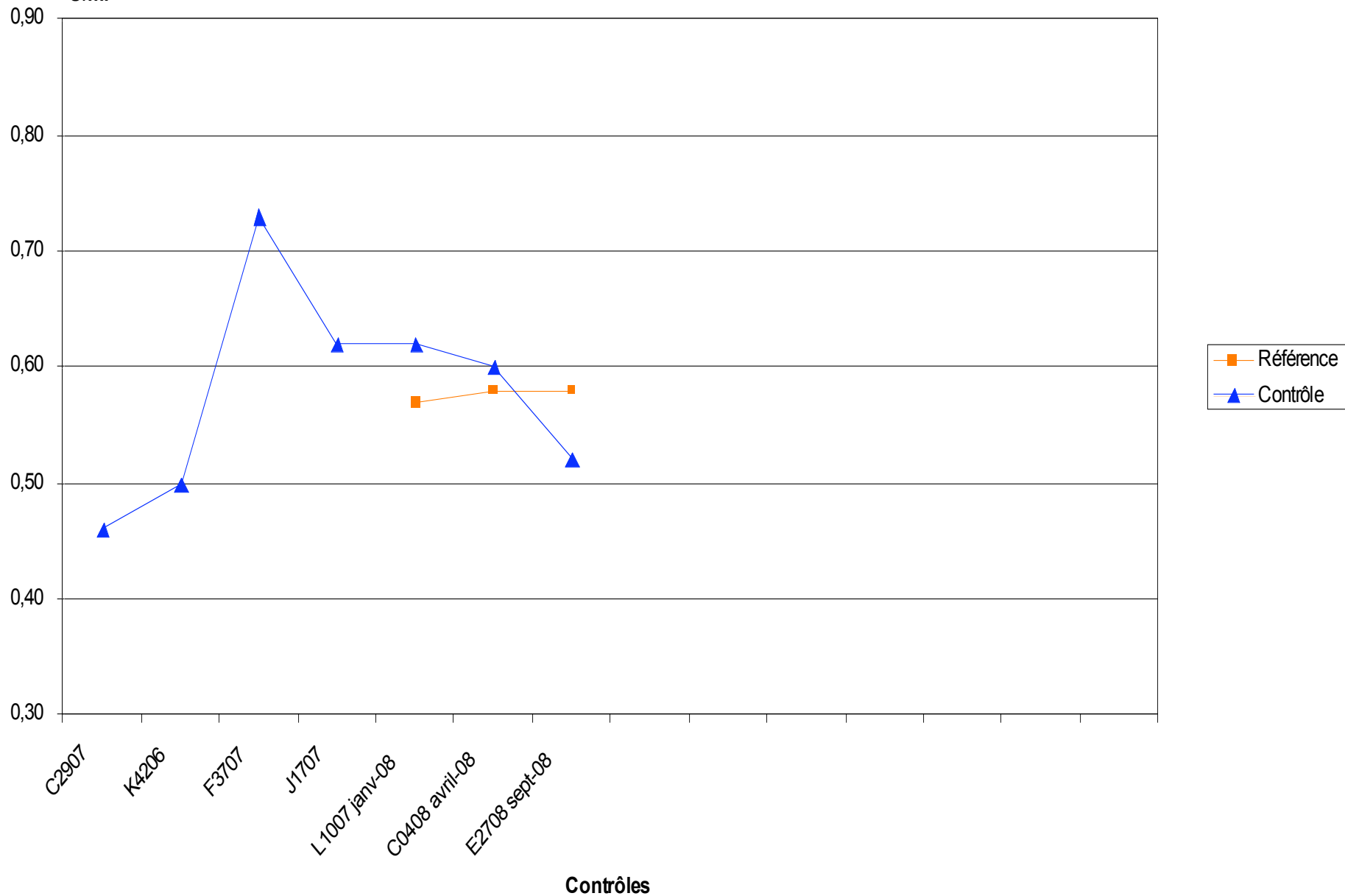
	Concentration à R = 1
Référence	0,58 U/ml
Contrôle	0,52 U/ml



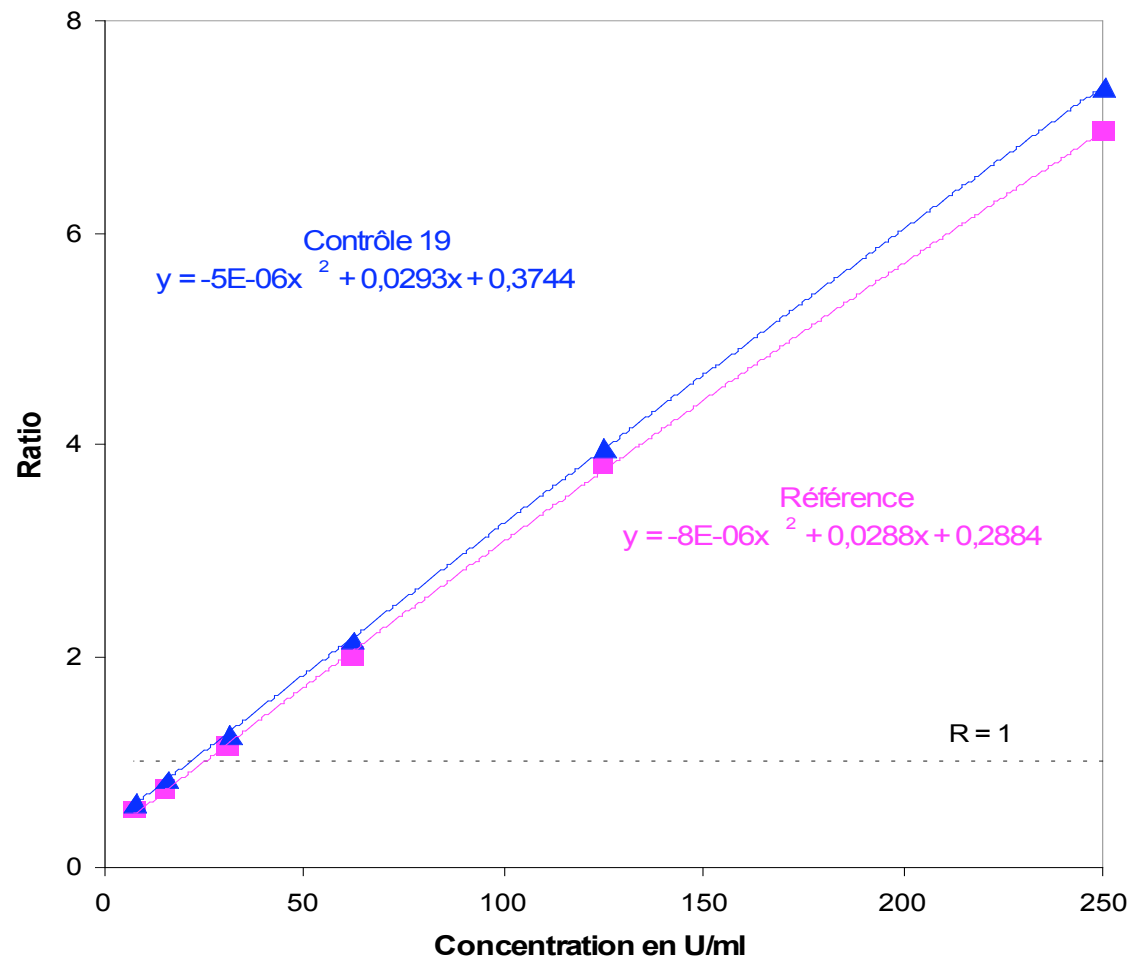
- ◆ Référence - Concentration à R = 1 : 0,58 U/ml
- ▲ Contrôle - Concentration à R = 1 : 0,52 U/ml

Seuil de détection à R=1 en
U/ml

Suivi Ac anti-CMV Biokit

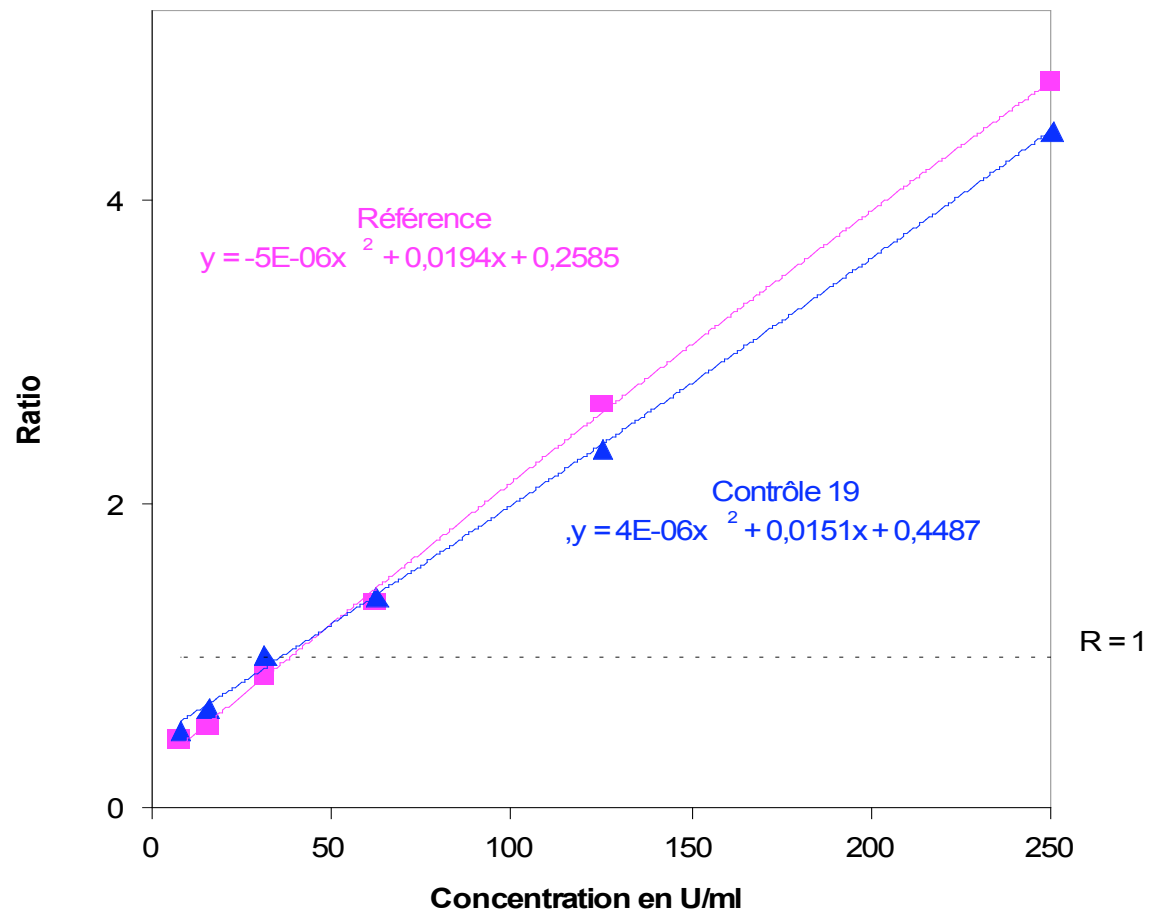


VIH 1
Contrôle 19 (18/06/2008)
Prism HIV O Plus lot n° 65128HN00



■ Référence - Concentration à R = 1 : 24,88
▲ contrôle 19 - Concentration à R = 1 : 21,43

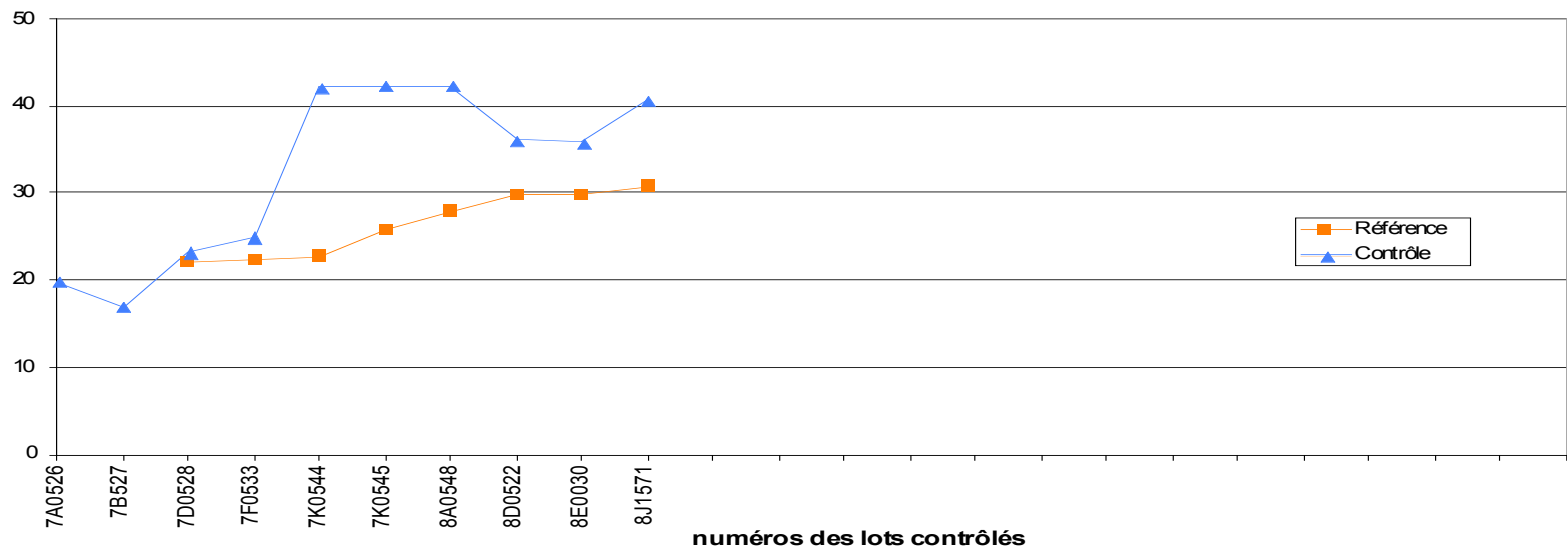
VIH 2
Contrôle 19 (18/06/2008)
Prism HIV O Plus lot n°65128 HN00



■ Référence - Concentration à R = 1 : 38,61
▲ contrôle 19 - Concentration à R = 1 : 36,87

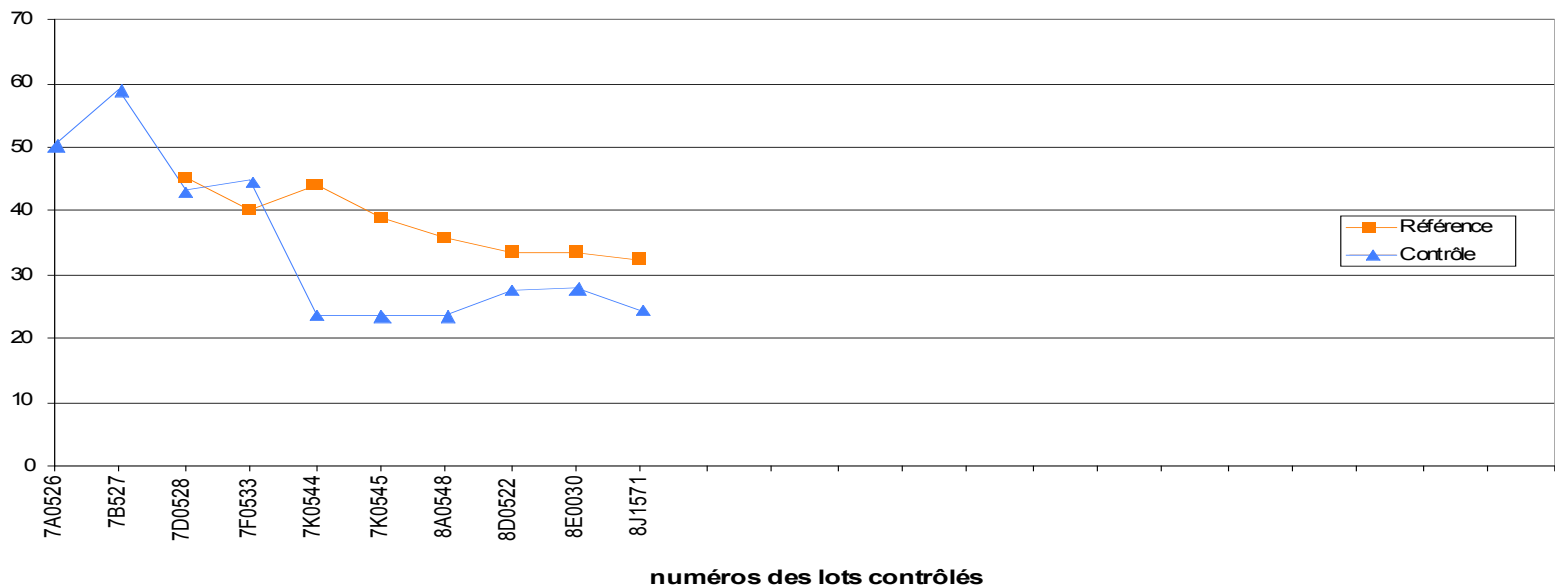
DILUTION à R=1

Suivi Ac anti-HIV 1 réactif Genscreen Ultra

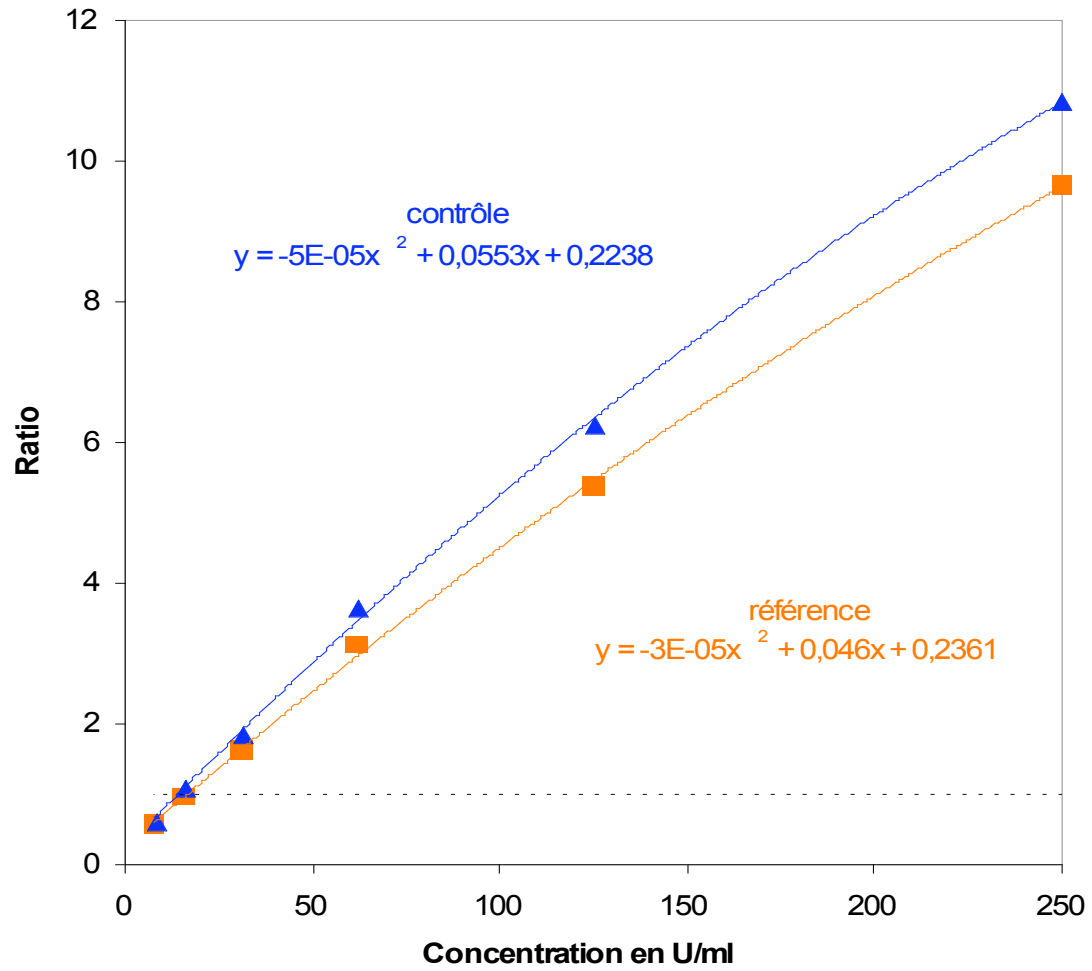


CONCENTRATION en U/ml à R=1

Suivi Ac anti-HIV 1 réactif Genscreen Ultra



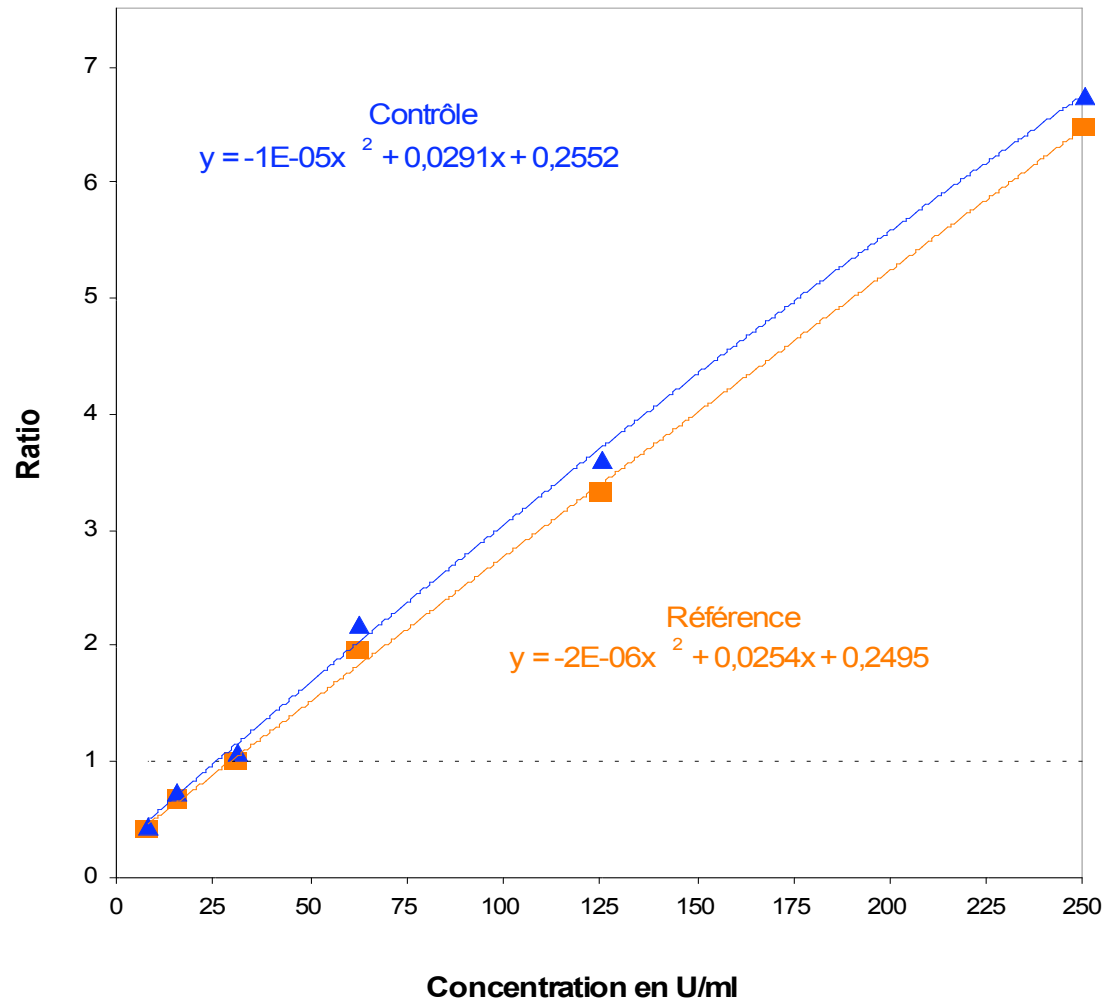
HTLV I
Murex Abbott HTLV L150210
Contrôle 26 du 03/04/2008



■ Référence - Concentration à R=1 : 16,79 U/ml

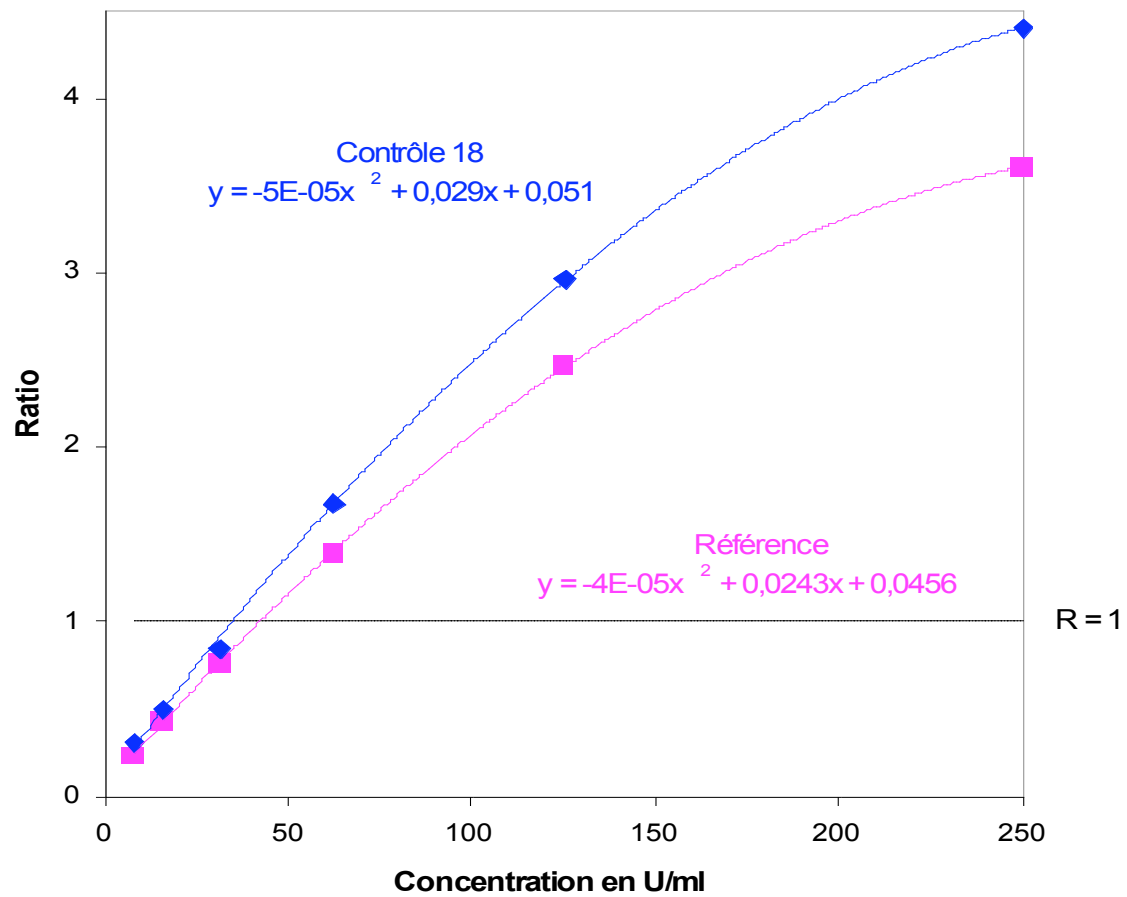
▲ L150210 - Concentration à R=1 : 14,22 U/ml

HTLV II
Murex Abbott HTLV lot L150210
Contrôle 26 du 03/04/2008



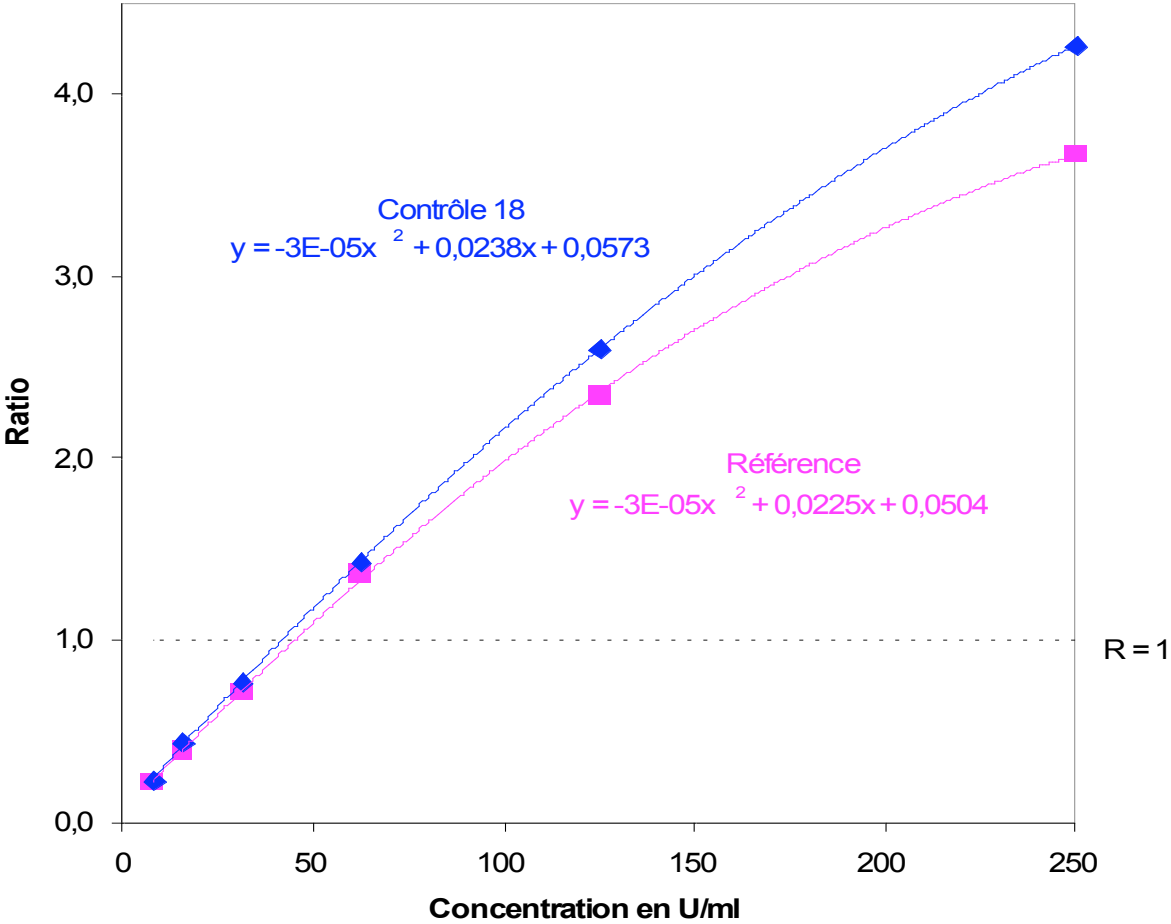
■ Référence - Concentration à R=1 : 29,62 U/ml
▲ L150210 - Concentration à R=1 : 25,82 U/ml

HCV (C22)
Contrôle 18 (26/03/2008)
Prism HCV lot n° 61095HN00



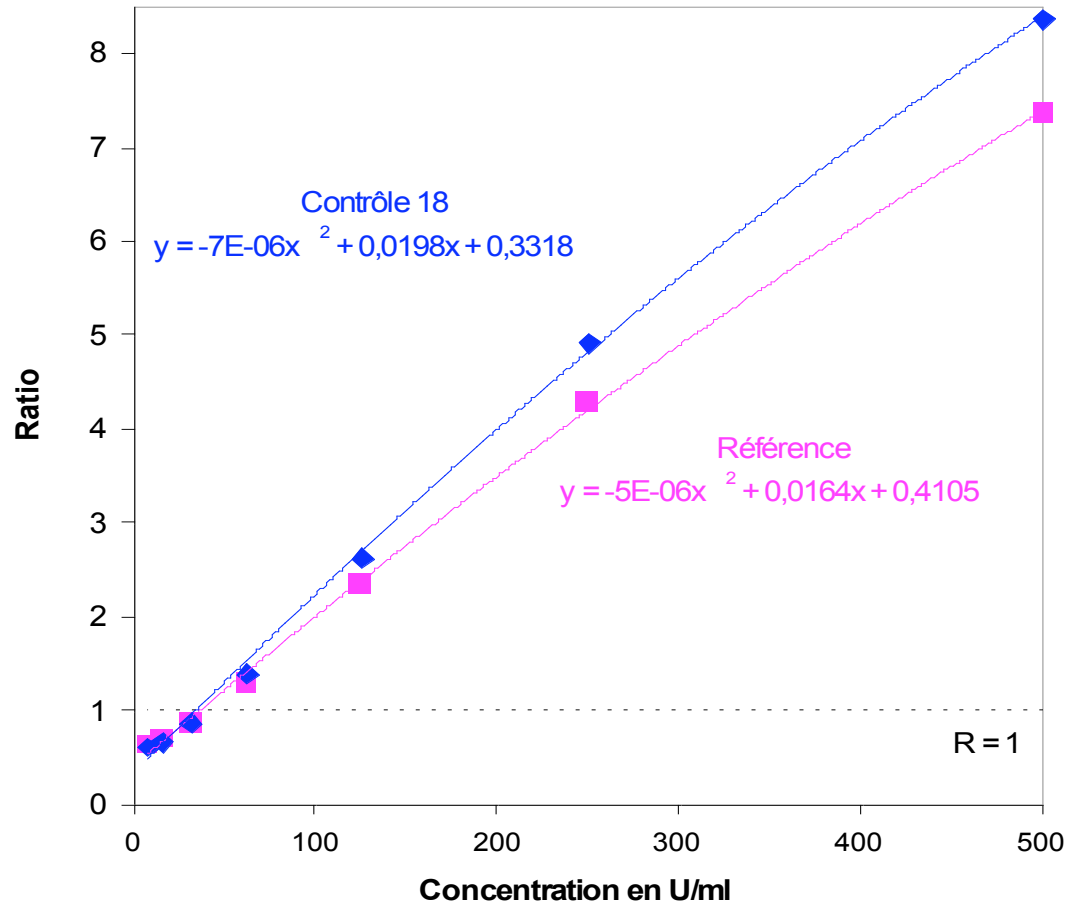
■ Référence - Concentration à R = 1 : 42,21
◆ Contrôle 18 - Concentration à R = 1 : 34,81

HCV (C33)
Contrôle 18 (26/03/2008)
Prism HCV lot n° 61095HN00



■ Référence - Concentration à R = 1 : 44,89
◆ Contrôle 18 - Concentration à R = 1 : 41,81

HbC
Contrôle 18 (26/03/2008)
Prism Hbcore lot n°59666HN00



■ Référence - Concentration à R = 1 : 36,35
◆ Contrôle 18 - Concentration à R = 1 : 34,16

Intérêts du contrôle de premier niveau

Contrôle de 1^{er} niveau =

Réactovigilance « préventive »

Disponibilité d'éléments informatifs pertinents lors de la validation à réception des lots sur les plateaux avant leur utilisation en routine (résultats comparatifs)

➔ simplification des protocoles de validation

Bilan (1) - Qualitatif

- ❖ Amélioration de la qualité de la prestation :
 - ✓ Résultats comparés sur **3 outils** (panel,
✓ **Mise en œuvre après avoir fixé le mode opératoire** donnant les plus faibles variations intra et inter-essais)
- ❖ Amélioration des rendus de résultats pour une meilleure lisibilité :
Toutes les limites de détection sont calculées en **concentration**

Bilan (2) - Quantitatif

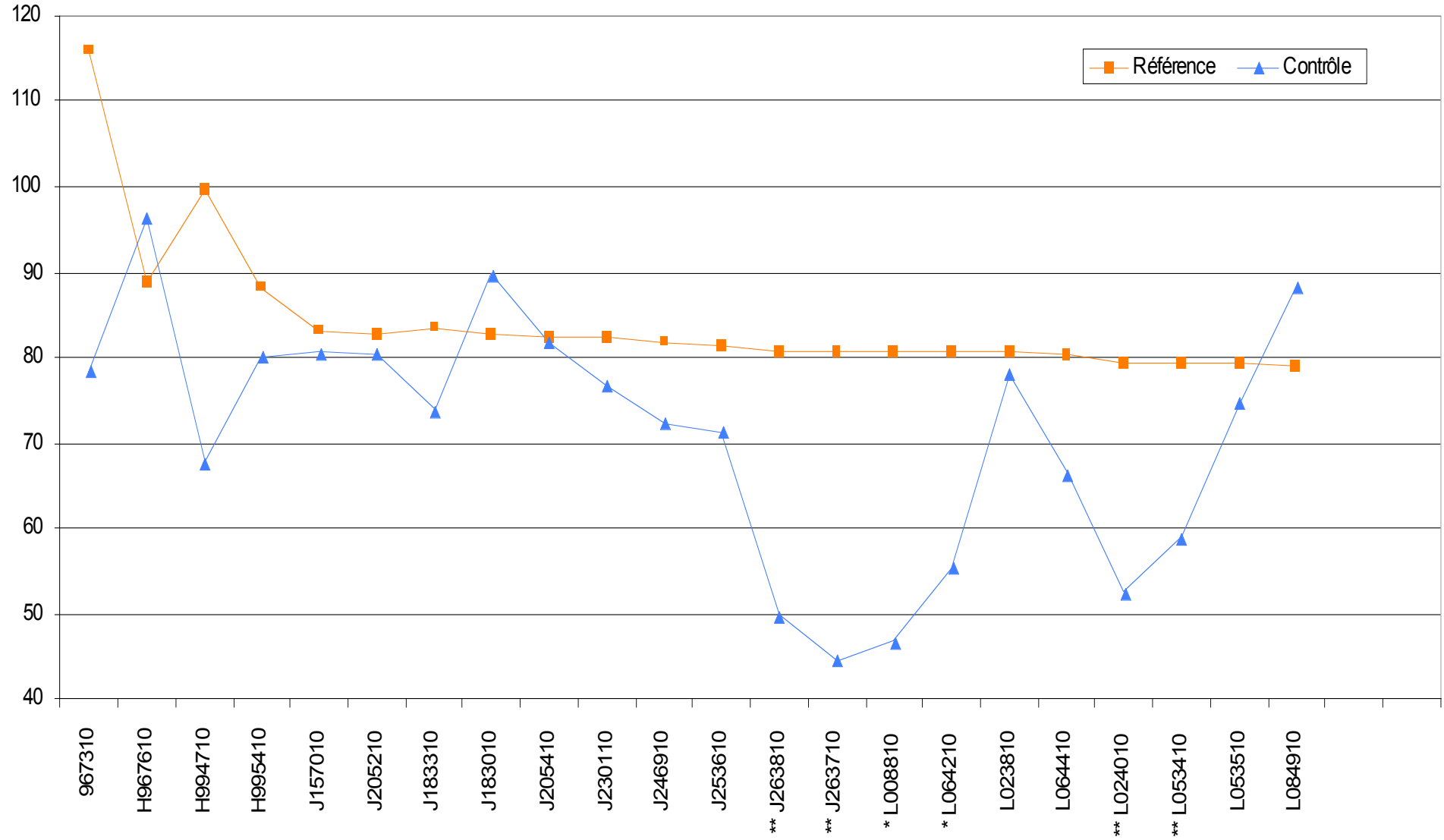
- ❖ 7 marqueurs contrôlés
- ❖ 169 lot testés : 95 réactifs Prism et 74 réactifs de microplaques
 - ✓ 163 lots conformes
 - ✓ 6 lots non conformes
- ✓ **les firmes** sont averties d'un éventuel problème de lot au regard des exigences de l'E.F.S., avant sa distribution aux QBD
 - ➔ **Interactivité**
- ✓ **La réactovigilance de l'EFS Siège** est informée des résultats de ces contrôles
 - ➔ **Interactivit**

suivi des lots par rapport à la référence HTLV I

(*: lot libéré mais valeur non intégrée à la référence)

** : lot non libéré, valeur non intégrée à la référence)

dilution à R=1

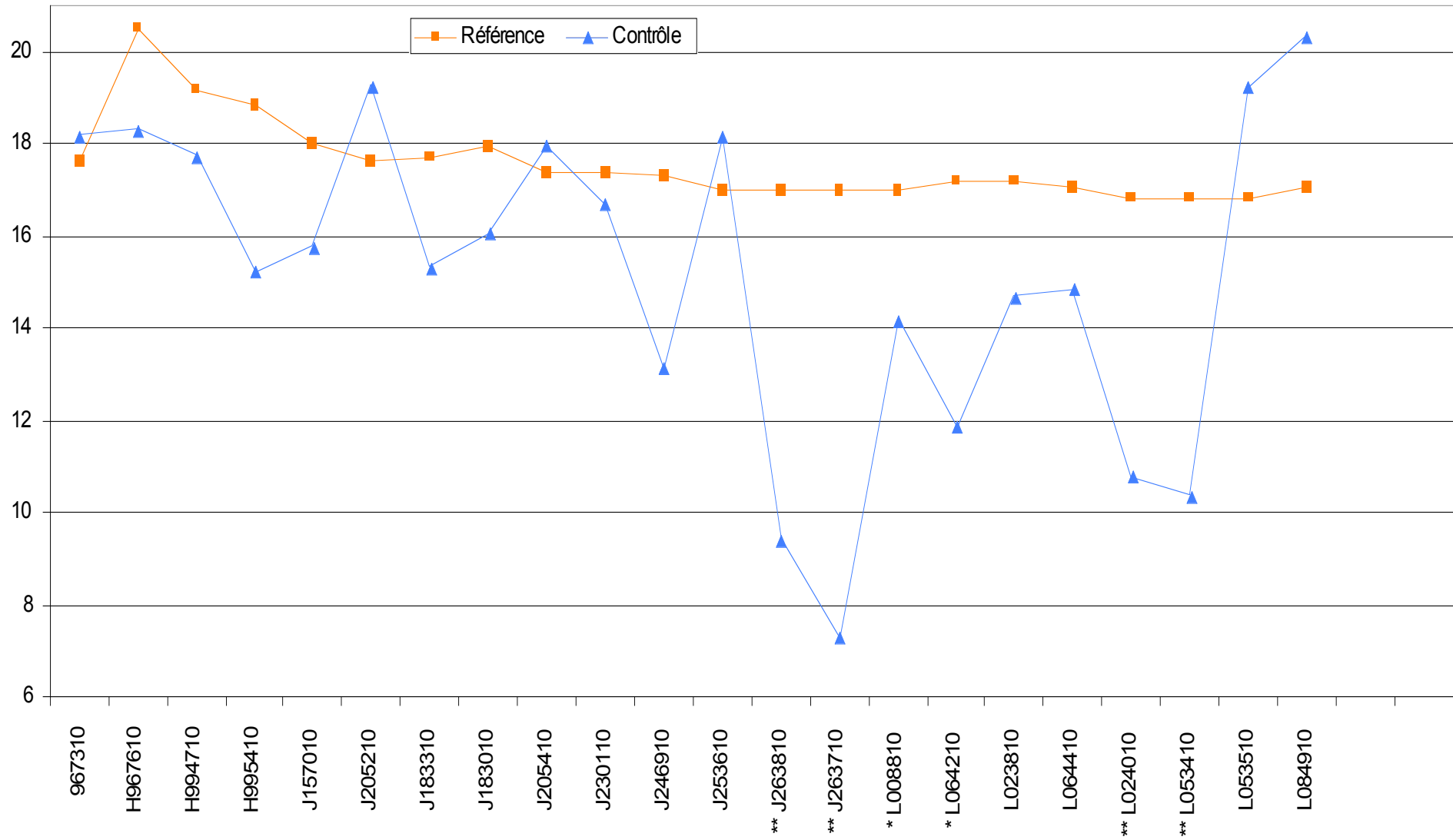


suivi des lots par rapport à la référence HTLV II

dilution à R=1

(*: lot libéré mais valeur non intégré à la référence

** : lot non libéré, valeur non intégrée à la référence)



Connexions interactives

