



Etablissement Français du Sang

LE LIEN ENTRE LA GÉNÉROSITÉ DES DONNEURS DE SANG ET LES BESOINS DES MALADES

# Mise en place des contrôles délégués Parvo/HAV réalisés pour le LFB dans les laboratoires QBD

Dr Valérie Barlet  
Rencontres TACT – Lyon 23 mars 2015

## Contexte (1) :

Le plasma matière première destiné au fractionnement par le LFB fait l'objet du dépistage du **Parvovirus B19** et du **Virus de l'Hépatite A (VHA)** par biologie moléculaire.

Ces analyses ne font pas partie des analyses réglementaires obligatoires réalisées en Qualification Biologique des Dons (Bonnes Pratiques Transfusionnelles).

Elles répondent à la **pharmacopée européenne** qui rend obligatoire la détection du ParvoB19 dans les pools de plasmas destinés au fractionnement.

## Pourquoi ?

- virus non enveloppés ubiquitaires
- peuvent être responsables de maladies graves chez la femme enceinte et chez les Immuno déprimés.
- sont résistants aux procédés classiques d'inactivation des agents pathogènes des procédés de fabrication des MDS par Solvant-détergent (SD) : cas de transmission décrits dans la littérature avec les Ig IV ou les facteurs de coagulation (capacité de neutralisation des anticorps contenus dans le mélange de plasmas dépassée).
- Le nombre important de plasmas dans un pool destiné au fractionnement (matière première) augmente le risque d'avoir un pool virémique avec charge virale élevée (notamment pour le ParvoB19 dont les charges virales peuvent être très élevées jusqu'à  $10^{12}$  UI/ml)

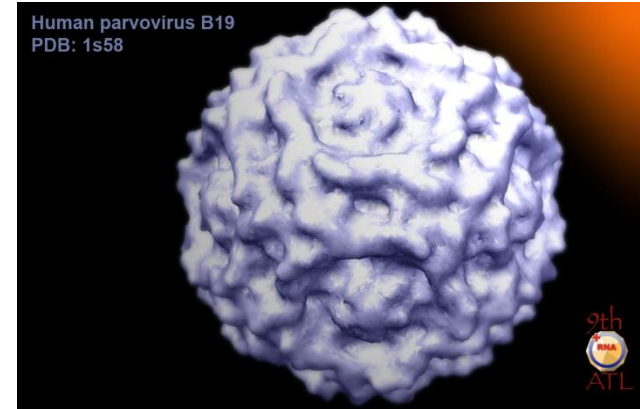
## Contexte (2) :

### Le dépistage génomique de ces 2 virus permet ainsi de contrôler la charge virale initiale dans les lots de plasma destinés au fractionnement :

- **1996** : introduction de la détection de l'ADN du Parvo B19 par le LFB sur les plasmas destinés au fractionnement pour écarter les plasmas avec **charge virale > 10<sup>6</sup> UI/ml** (contrôle qualité des pools de plasmas destinés au fractionnement)
- **2000** : introduction de la détection de l'ARN du VHA par le LFB sans exigence réglementaire.  
seule exigence : si l'ARN est recherché dans les pools de plasmas dans le cadre du CQ, le test utilisé doit pouvoir détecter un témoin contenant 100 UI/ml d'ARN).
- **2004** : la pharmacopée européenne rend la détection du Parvo B19 obligatoire sur les pools de plasmas destinés à la production de MDS (dont les Immunoglobulines anti-D) et les plasmas viro-inactivés  
Limite de détection pour le PMH (premier mélange homogène) : **10<sup>4</sup> UI/ml**

## Parvovirus B19

- Famille : Parvoviridae
- Genre : Erythrovirus (en raison de sa capacité à infecter les précurseurs des globules rouges)
- Taille : 20 nm de diamètre
- Capside icosaédrique
- Génome : ADN monocaténaire, de 5,4 kb
- non enveloppé



Isolé pour la 1<sup>ère</sup> fois en 1972 (sérum de donneurs de sang, présent dans le monde entier, regroupé en trois génotypes principaux (1-3) avec divergence nucléotidique globale d'environ 10 % à 20%.

**Génotype 1** est responsable de la majorité des infections dans le monde.

La réglementation exige que les tests détectent les **3 génotypes**

Extrêmement infectieux et fréquemment transmis en raison de sa **voie de transmission respiratoire**. Beaucoup plus rarement, transmission par voie transplacentaire (anémie foetale grave) ou transfusionnelle

petites épidémies de fin d'hivers et début de printemps et **grands pics épidémiques** tous les 3 à 4 ans.

primo-infection : **pic de virémie très élevé** jusqu'à  $10^{13}$  particules/ml (une semaine après la contamination) avec décroissance très rapide en quelques jours puis apparition des IgM (6 mois) et IgG (plusieurs années).

Mais persistance de virémie basses ( $10$  à  $10^3$  copies/ml) et chroniques chez le sujet immuno-compétent de plus en plus confirmée

la séroprévalence du B19 croit avec l'âge : 2-10% (enfants < 5 ans), 40-60% (adultes), plus de 85% (> 70 ans)

## Parvovirus B19 (suite)

La pathogénicité du B19 lors d'une primo-infection inclut deux types de manifestations :

1) celles liées à la multiplication virale elle-même :

- syndrome grippal ou formes généralement asymptomatiques (adultes immunocompétents)
- femme enceinte non immunisée : avortement, anasarque, myocardite ou mort fœtale
- patients atteints d'anémie hémolytique chronique : **crise érythroblastopénique aiguë** (anémie centrale profonde)
- chez le patient immuno-déprimé : la virémie peut devenir chronique avec **anémie intense voir aplasie**

=> récepteur cellulaire du virus est l'antigène érythrocytaire P ou globoside (surface des érythrocytes et de leurs précurseurs, mégacaryocytes, cellules endothéliales, et fibroblastes)

=> réplication virale dans les progéniteurs érythoïdes (lignée des globules rouges)

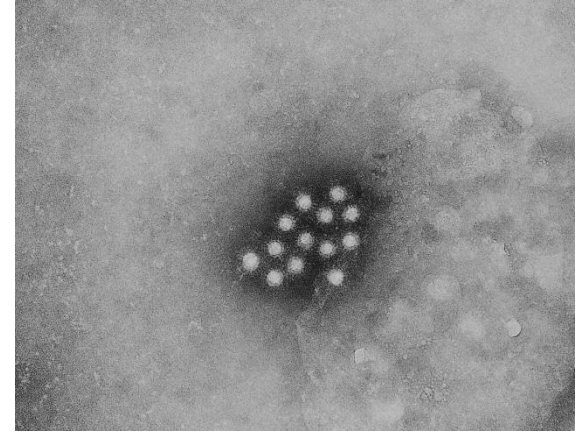
2) celles liées à la réponse immunitaire (dépôt de complexes immuns circulants) :

- chez l'enfant : mégalérythème épidémique ou « **cinquième maladie** »
- chez l'adulte jeune (femme surtout) : éruption cutanée ou polyarthrite suraigue ou chronique

Les Conséquences d'une contamination dépendent de la **charge virale** (primo-infection ou infections chroniques) et du **statut immunitaire** du patient vis-à-vis du parvovirus B19 (anticorps protecteurs ?)

## Virus de l'Hépatite A

- Famille : Picornaviridae
- Genre : Hepatovirus
- Taille : 27 à 32 nm
- Capside cubique
- Génome : ARN de 7,5Kb, simple brin
- non enveloppé
- 1 sérotype
- 3 génotypes humains (IA et IB, IIA et IIB, IIIA et IIIB)



Agent (avec le VHE) des hépatites à transmission féco-orale

Virus très résistant dans le milieu extérieur :

- résiste relativement bien à la chaleur : il est stable 1 heure à 60°C.
- reste infectieux de plusieurs jours à plusieurs mois (sols, sédiments marins, eau douce et eau de mer)
- résiste également au froid, au pH acide, **aux solvants des lipides** (éther, chloroforme), aux concentrations de chlore présentes dans les eaux de piscine ou l'eau de boisson (0,1 à 0,2 ppm) et à l'alcool à 70°C
- il est inactivé par l'autoclavage (120°C pendant 20 min), le chlore à concentration élevée 2 à 2,5 mg/l, le formol, la  $\beta$ -propiolactone et les ultraviolets.

Virémie brève : 8 à 15 jours (phase prodromique)

Expression clinique varie suivant l'âge : asymptomatique chez 90% des enfants avant 5 ans, symptomatique chez 70 à 80% des adultes parfois sévère (létalité > 1% après 40 ans, **hépatite fulminante**)

Séroprévalence : reflet des conditions socio-économiques (Eupore du Nord : zones de faible endémicité)

### Contexte (3) :

Jusqu'à début 2015, les contrôles délégués Parvo/HAV étaient réalisés pour le LFB par le **laboratoire URBM** de l'EFS Nord de France (convention avec le LFB) :

- sur les plasmas France
  - sur les plasmas TAF (Travail à Façon) et les plasmas imports
- } détection d'une **charge virale**  
≥ **10<sup>6</sup> UI/ml** sur chaque don unitaire
- sur des P300 (B19) et des P1000 (HAV) préparés par le LFB (à partir de P50)
  - sur des P300 (B19) et des P1000 (HAV) préparés par l'URBM (à partir de P25 issus de tubes biothèque pour les EFS RFID)
- sur le PMH en test unitaire (contrôle matière première) → **seuil 10<sup>4</sup> UI/ml**

**Le seuil de positivité est défini selon la sensibilité de la méthode retenue et la taille du pool**

### Technique de PCR quantitative :

- Extraction : Magna Pure LC Total Nucleic Acid Isolation Kit (Roche Diagnostics)
- PCR temps réel : LightCycler (Roche Diagnostics),
  - HAV : Artus HAV LC RT-PCR Kit (Qiagen)
  - ParvoB19 : trousse Real ART Parvo B19 LC PCR Reagents (Qiagen)

## Données Laboratoire URBM (EFS NDF)

### Prévalence mensuelle P300 positifs en PCR parvoB19 :

Année	Paramètre	Janv	Fev	Mars	Avril	Mai	Juin	Juillet	Août	sept	oct	nov	dec	Annuelle
<b>2013</b>	N P300 testés	659	838	895	944	708	680	972	881	800	962	423	1142	9904
	N P300 +	11	21	36	46	34	29	51	64	32	25	4	6	359
	%	1,67%	2,51%	4,02%	4,87%	4,80%	4,26%	5,25%	7,26%	4,00%	2,60%	0,95%	0,53%	<b>3,62%</b>
<b>2012</b>	N P300 testés	1054	649	1033	588	1183	804	1509	990	814	1302	780	502	11208
	N P300 +	14	12	43	27	78	50	71	41	34	41	10	4	425
	%	1,33%	1,85%	4,16%	4,59%	6,59%	6,22%	4,71%	4,14%	4,18%	3,15%	1,28%	0,80%	<b>3,79%</b>
<b>2011</b>	N P300 testés	626	1037	1089	1078	1102	997	1271	986	984	1105	1041	1138	12454
	N P300 +	10	19	19	21	33	25	39	19	28	21	20	19	273
	%	1,6	1,83	1,74	1,95	2,99	2,51	3,07	1,93	2,85	1,9	1,92	1,67	<b>2,16%</b>
<b>2010</b>	N P300 testés	843	1109	1316	1160	587	1107	880	1065	876	920	1228	1045	12136
	N P300 +	22	24	25	28	24	14	22	19	8	6	6	10	208
	%	2,61	2,16	1,9	2,41	4,09	1,26	2,5	1,78	0,91	0,65	0,49	0,96	<b>1,81%</b>
<b>2009</b>	N P300 testés	674	762	1028	1363	618	675	795	692	596	1250	865	1002	10320
	N P300 +	14	23	45	77	50	46	46	22	33	33	6	10	405
	%	2,08	3,02	4,38	5,65	8,09	6,81	5,79	3,18	5,54	2,64	0,69	1	<b>4,07%</b>
<b>2005</b>	N P300 testés	634	756	649	218	804	892	576	802	632	680	438	537	7618
	N P300 +	20	34	38	15	56	74	49	71	51	18	5	14	445
	%	3,15	4,5	5,86	6,88	6,97	8,3	8,51	8,85	8,07	2,65	1,14	2,61	<b>5,62%</b>

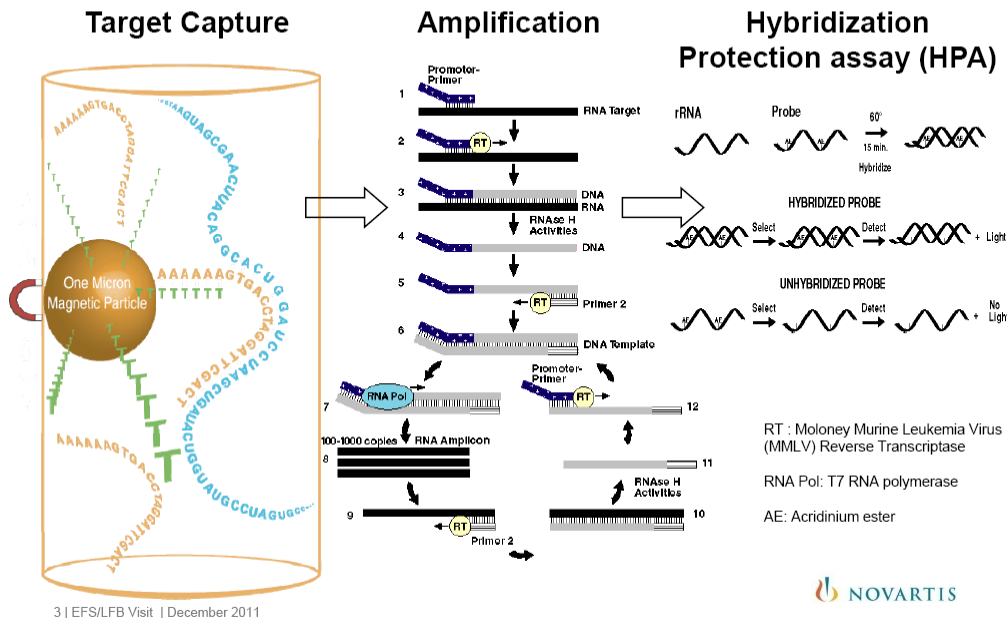
**Prévalence moyenne : 1 / 8000 dons positifs** (entre 1/625 et 1/50 000 dans littérature)



## Présentation du réactif Procleix Parvo/HAV V2 Assay sur automate TIGRIS

Core Technology NAT Assays  
Gen-Probe/Novartis Diagnostics

**Détection simultanée :**  
- du HAV (test qualitatif)  
- du ParvoB19 (test quantitatif)



Dénaturation des protéines et **capture de la cible** à l'aide d'oligonuclotides de capture  
Hybridation de régions très conservées de ARN HAV et ADN B19

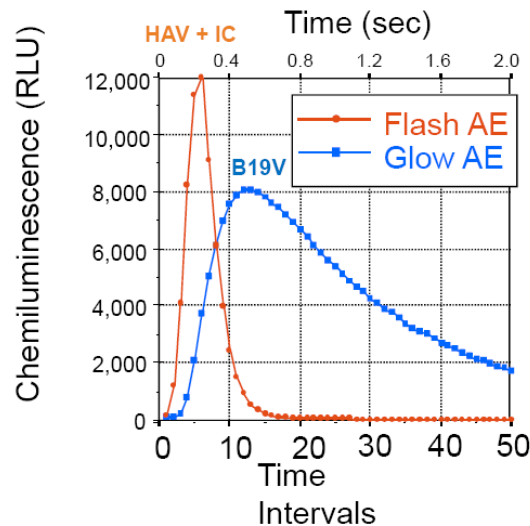
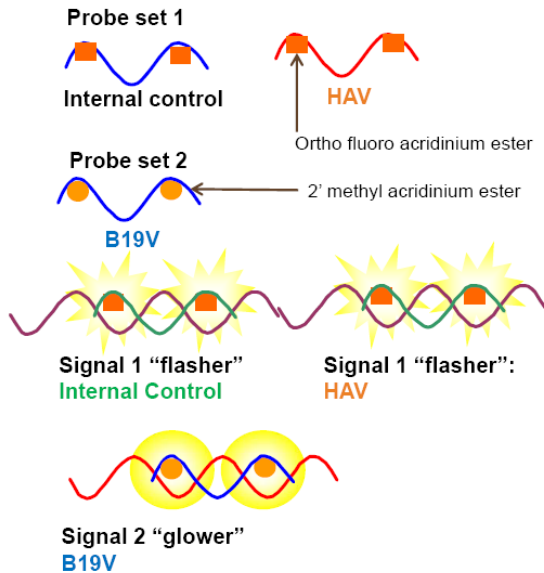
TER : améliorant la sensibilité B19 en favorisant la dénaturation des particules virales de l'ADN du B19  
Séparation par Microparticules magnétiques

**Amplification par TMA** (deux enzymes : MMLV reverse transcriptase et T7 RNA polymérase) : multiple copies d'ARN

**Détection HPA :** à l'aide de sondes simple brin marquées (chemiluminescence)  
Réactif de sélection : inactivation des sondes non hybridées  
Émission lumière par les sondes hybridées

## Présentation du réactif Proclex Parvo/HAV V2 Assay sur automate TIGRIS

### Principles of DKA



Amplicon CI et HAV : sondes avec émission de lumière rapide (**signal « éclair »**)

Amplicon ParvoB19 : sondes avec émission de lumière plus lente (**signal « brillant »**)

Détection CI et HAV différenciée par l'amplitude du signal (bien plus élevé pour HAV)

ParvoB19 : **quantification linéaire** par compétition avec un CI B19

## Contexte (4) :

Le déploiement des contrôles délégués Parvo/HAV dans les laboratoires QBD est un **projet national**

Début du projet : Avril 2012

Déploiement dans les laboratoires QBD : **décembre 2014 à février 2015**

Pilotage du projet DGD-PO : Valérie Barlet

Réunions de travail régulières avec les 4 QBD

Réunions techniques mensuelles avec le LFB

Suivi d'avancement du dossier lors des Copil EFS/LFB

Collaboration étroite entre les 4 laboratoires QBD, le laboratoire URBM de l'EFS NDF (C. Defer) et l'UPR de l'EFS Bretagne (Brest).

## Grandes étapes du projet :

- 2012/2013 : validation initiale du réactif Procleix Parvo/HAV V2 Assay sur automate Tigris par le laboratoire URBM de l'EFS Nord de France : dépôt du dossier aux autorités compétentes pour autorisation préalable (demande déposée par le LFB à l'EMA). Rapport L 02 3 71 07 VL 04 (03/2013).
- 2013/2014 : Etude de transposition de méthode dans les 4 QBD : dossier déposé en mai 2014 (enregistrement dossier PMF LFB)
- 2013/2014 : étude de faisabilité réalisée par NDF (QBD/URBM)
- 2013/2014 : complément de validation de méthode sur les 4 laboratoires QBD (étape poolage, Tigris 2)
- 2013/2014 : travaux préparatoires à la mise en œuvre (poolage, informatique, RH, ...)

## Contexte (5) :

- **Poolage manuel** par le LFB à partir des tubulures de plasmas (P50 / P300 et P1000) => demande du LFB que l'EFS prenne en charge le poolage des plasmas pour les contrôles délégués Parvo/HAV.
- Demande en parallèle du LFB de déployer la **technologie puces RFID** sur la filière plasmas France (suppression des tubulures)
- La technologie actuellement utilisée par le laboratoire URBM (Lille) arrivait à son terme : Prolongation du contrat actuel de fourniture de réactifs par la société Roche (réactifs Roche/Qiagen) jusqu'à **fin mars 2015** (reports successifs) => arrêt de production.
- **Période de transition :**  
2013/2014 : début du déploiement des puces RFID dans les EFS avec poolage Parvo/HAV assuré par l'URBM à partir des tubes biothèques (fin 2014 : 6/14 EFS déployés NDF, PDL, LOCH, Alsace, BFC, CA)
- Pour les 8 autres ETS : déploiement des puces RFID de façon coordonnée à la mise en place des contrôles délégués dans les laboratoires QBD :
  - QBD Sud : 15/12/2014 .....EFS PyMed – AlpesMed et Auvergne-Loire
  - QBD Nord : 20/01/2015..... EFS IDF et Normandie
  - QBD Ouest : 26/01/2015 .....EFS Bretagne et Aquitaine-Limousin
  - QBD Est : 02/02/2015 .....EFS Rhône-Alpes
- délai de 42 jours nécessaire entre la fin des déploiements QBD et la péremption des réactifs URBM à date du 23 mars 2015 (délai de mise à disposition des tubes biothèque)

## Contexte (6) :

- **Note nationale EFS 2015-002** : Analyses non qualifiantes, réalisées de façon décalées / analyses QBD (J+5 à J+10, possible J+30 maximum – 2 phases successives :
  - **phase 1** (avant bascule U de l'ensemble des EFS) :  
transfert direct des résultats d'EOS vers le LFB (via interface informatique développée par NDF)  
ParvoB19 : pas de démontage des pools ParvoB19 positifs répétables.  
HAV : démontage d'un pool positif répétable en tests unitaires pour identifier le don positif : CAT idem IPD
  - **phase 2** (après dernière bascule U) :  
transfert des résultats dans Inlog U (paramétrage U adapté)  
Règles de libération des plasmas pour fractionnement (résultats ParvoB19 et HAV négatifs)  
Démontage en pools croisées des pools ParvoB19 (+) : identification du don positif, stratégie des PSL associés ?
- **Activités Plasmas TAF et import et PMH**
  - activité prévisionnelle 2015 : 16 500 pools
  - également pris en charge par les laboratoires QBD : répartis sur les 4 laboratoires
  - date de début : à la péremption des réactifs URBM (23/03/2015)
- **Aspect Réglementaire** : activités soumises aux BPF (Bonnes Pratiques de Fabrication) ou aux BPT (Bonnes pratiques Transfusionnelles) ?
  - analyse/expertise DARQ
  - Pré-Audit du LFB réalisé en QBD SudConclusion : les activités TAF/import et PMH sont soumises aux BPF (contrôle qualité in process)  
CR pré-audit QBD Sud => s'approprier la démarche « de la gestion du changement »
- **Aspect contractuel EFS/LFB** : rédaction cahier des charges et contrat de prestations de service

## Conditions de Déploiement en QBD

### Aspects Organisationnels :

Poste poolage (nouveau poste de travail) :

- 5 jours/7 (du lundi au vendredi)
- horaire défini : 9h-18h (ajustement secondaire si nécessaire)
- poste tournant

Postes DGV :

- pas de modification des horaires des postes de travail
- lancement des séries Parvo/HAV sur la nuit
- moyenne : 2 à 3 séries/semaine (environ 300 pools/sem)
- pas ou peu d'impact sur les heures de rendu de résultats Ultrio
- séries Parvo/HAV non urgentes à intégrer dans les contraintes du laboratoire

## Conditions de Déploiement en QBD

### Aspects Organisationnels :

#### Modification des flux tubes DGV :

- transfert des tubes DGV vers le laboratoire poolage après analyse Ultrio
- dès disponibilité des résultats, transfert des tubes DGV à partir des portoirs Tigris vers les portoirs Tecan (dé-rackage/re-rackage manuel).
- poolage des tubes DGV (pools de 48) :
  - le jour de l'analyse Ultrio pour les dons urgents : 1ères séries DGV (J1)
  - le lendemain matin pour les dons non urgents des dernières séries (J2)
- conservation des pools avant analyse à + 4°C pendant 7 jours (labo poolage)
- retour des tubes DGV après poolage vers les stations pré-analytiques pour archivage

#### Secteur pré-analytique : addition d'un nouveau tri secondaire (tubes IHD-PK)

- assuré par les postes d'AM post-analytiques (10h-19h ou 11h-19h)
- pour préparer les expéditions de tubes PLER à partir du tube IHD (plus possible à partir du tube DGV)
- pas d'archivage du tube IHD (inutile et manque de place dans le gyrostocqueur)

## Déploiement laboratoires QBD (travaux préparatoires)

### 1) Acquisition d'un distributeur pooleur (2013-2014)

- rédaction du **Cahier des Charges** (QBD Est et Sud), AO national (T2-T3 2013)
- **cadence attendue** : 2500 à 3800 dons dans une plage horaire de 7h de travail
- solution retenue : 1 automate **Tecan Freedom Evo 200** / laboratoire QBD
- livraison dans les 4 laboratoires : décembre 2013
- formation du personnel : janvier 2014
- rédaction d'un protocole de qualification national et **qualification nationale** (QBD Ouest)
- **QI/QO/QP fournisseur et EFS** dans chaque laboratoire QBD : janvier-juillet 2014
- **définition du paramétrage** adapté à notre activité : Master EFS V1.0 => Master EFSV2.0 avec deux protocoles de pipetage selon cadence (script EFSPool1 et script EFSPool2)
- choix national des consommables (CDC) : tube de pool et bouchons (tube hémolyse 7 ml), spécifications des étiquettes CAB des pool (CDC), conditions de stockage après analyse
- définition de la taille de pool minimale (P46)



## Déploiement laboratoires QBD (travaux préparatoires)

### 2) Développement et validation informatique (2013-2014)

- Développement d'une **nouvelle version EOS 3.3** par le CCLL (pré-requis) permettant :
  - la gestion des pools dans EOS
  - le développement d'un domaine spécifique Parvo/HAV
  - Le développement du paramétrage Parvo/HAV (algorithmes ParvoB19 et HAV,...)
  - un nouvel automate d'export NG 1.0 permettant d'une part l'export des résultats Parvo/HAV
- **Validation nationale** EOS 3.3 sur base test par QBD Grand Est (non régression) : 12/2013
- Déploiement de la version EOS 3.3 dans les 3 autres laboratoires QBD : T1-2014
- Développement de **Drivers de connexion** entre automates et EOS (CCLL) :
  - Driver EOS Pooleur Freedom Evo pour la connexion de l'automate pooleur avec EOS
  - Driver EOS Tigris version 1.2 permettant la réception des résultats HAV et Parvo B19 et la gestion des résultats des pools.
- Développement du **paramétrage spécifique EOS Parvo/HAV** par QBD Grand Nord : 2014
- **Validation nationale** des drivers de connexion et du paramétrage spécifique EOS Parvo/HAV par QBD Grand Nord : 2014
- Développement d'une **interface informatique** entre les bases EOS et la plateforme informatique de l'EFS NDF (transfert direct des résultats Parvo/HAV) : CCLL-DSI NDF-LFB
- **Validation nationale** de cette interface informatique : QBD Grand Nord-DSI NDF et LFB (T4 – 2014)

## Déploiement laboratoires QBD (travaux préparatoires)

### 3) Mise à jour des automates Tigris et validation de méthode (2013-2014)

- **Changement de version logiciel** des Tigris (version Tigris 4.2) : pré-requis
  - **validation nationale** par QBD Grand Sud (rapport 09/2013)
  - déploiement sur l'ensemble des automates Tigris (25 automates) : S2 – 2013
- **Installation du test Procleix Parvo/HAV** sur 2 Tigris de chaque laboratoire (DGV 1 et 2)
  - changement du capot et du carroussel de réactifs (emplacement réservé pour le réactif TER)
  - vérification du luminomètre par un test d'injection (flash test) et QP (PQ Run Parvo)
  - modification de l'inventaire des réactifs
- Formation Grifols des techniciens DGV (T4 - 2013)
- **Validation de méthode (transposition méthode dans les 4 QBD)** : selon exigences de la pharmacopée européenne pour dépôt de dossier par le LFB et autorisation par EMEA (pré-requis au déploiement dans les laboratoires QBD) : nov/déc 2013 + T1- 2014  
Méthode de référence : rapport initial  
Permet de vérifier la cohérence des résultats obtenus entre chaque laboratoire QBD d'une part et avec la méthode de référence d'autre part.

## Principaux résultats de l'étude de transposition de méthode dans les 4 laboratoires QBD

- **Robustesse (étudiée sur le ParvoB19)** : absence de contaminations croisées

		Cross contamination study			
		Angers	Lille	Metz-Tessy	Montpellier
B19 DNA positive plasma samples (1.10 <sup>8</sup> IU/ml)	Positive results	37/37	37/37	37/37	37/37
	Negative results	0/37	0/37	0/37	0/37
Negative diluent samples	Negative results	32/33*	33/34	33/34	34/34
	Positive results	1/33*	1/34	1/34	0/34

3 résultats entre 500 et 1000 UI/ml  
( $<$  seuil d'étude de spécificité et au seuil défini de positivité de la méthode pour les QBD = 10 000 UI/ml).

- **Seuil de détection HAV** : pas de différence significative entre les laboratoires ( $p = 0.91$ )

Laboratory	Montpellier 12/06/2013	Metz Tessy 12/16/2013	Angers 12/16/2013	Lille 12/31/2013
50% LOD	0.45 IU/ml [0.36-0.58]	0,49 IU/ml [0.30-0.87]	0.47 IU/ml [0.37-0.62]	0.53 IU/ml [0.41-0.69]
95% LOD	2.53 IU/ml [1.63-5.22]	3.67 IU/ml [1.66-27.16]	3.28 IU/ml [2.02-7.18]	3.36 IU/ml [2.10-7.11]

gammes préparées à partir du WHO HAV 00/560

SD moyen inter-laboratoire :  
- 50% : 0,48 IU/ml [0.43-0.55]  
- 95% : 3.18 IU/ml [2.45-4.43].

## Principaux résultats de l'étude de transposition de méthode dans les 4 laboratoires QBD

- **Fidélité (précision intra et inter-essai)** : évaluée pour ParvoB19 et HAV à partir d'un échantillon titré à 3 x le SD 95%
  - HAV : 10 UI/ml (3 x SD95% moyen inter-laboratoire)
  - ParvoB19 : 1 000 IU/ml (3 x SD95% annoncé par le fournisseur à 340 UI/ml)

### Résultats HAV (S/CO) :

- répétabilité intra-essai : coefficient de variation (CV) entre 7,11 et 9,67% selon les laboratoires
- précision intermédiaire inter-essai : CV entre 7,11 et 9,67 % selon les laboratoires

### Résultats ParvoB19 (log UI/ml) :

- répétabilité intra-essai : CV entre 2,14 et 3,30% selon les laboratoires
- précision intermédiaire inter-essai : CV entre 2.41 et 3.28% % selon les laboratoires

Absence de différence significative entre laboratoires ( $p=0.060$ ).

## Déploiement laboratoires QBD (travaux préparatoires)

### 4) Etudes complémentaires (2013-2014)

- **Etude de faisabilité réalisée par l'EFS NDF (QBD et URBM) sur le ParvoB19 :**  
étude de concordance entre les deux méthodes (P300 URBM et P48 QBD) réalisée sur des échantillons de donneurs de sang testés en parallèle (à partir des tubes biothèque) :
  - bras A : analyse des 6 pools de 50 poches constituant les pools de 300 dons dépistés positifs en ADN B19 a été réalisée en parallèle par les 2 méthodes (P50 et P 300 constitués au LFB)
  - bras B : à partir des tubes biothèque, analyse en parallèle de 50 P300 (URBM) et 335 P48 (QBD) un seul pool positif avec les deux méthodes sur la période étudiée (concordance 100%)
- **Complément de validation de méthode** réalisé par chaque laboratoire lié aux conditions d'application de ces analyses dans les laboratoires QBD :
  - complément validation de méthode (exactitude et linéarité ParvoB19, corrélation sérum/plasma, spécificité,..)
  - validation du second couple automate/réactif (second Tigris)
  - validation de la méthode sur des pools de plasmas de donneurs de sang
  - tests de contaminations croisées (robustesse) complémentaires :
    - lors du tri et débouchage des tubes DGV par les stations pré-analytiques
    - pendant la conservation des tubes DGV avant poolage (max 4 jours à +4°C tubes ouverts)

## Déploiement laboratoires QBD (travaux préparatoires)

### 5) Définition des règles communes de validation analytique et de validation des lots de réactifs

- **Définition et préparation des CQI (UPR Brest) :**

- Run Control HAV : 10 UI/ml
- Run Control ParvoB19 ow : 10 000 UI/ml (série PMH et validation lots de réactifs)
- Run Control ParvoB19 médium : 20 000 UI/ml (séries plasmas France/TAF/import)

En cours de marquage CE (3 lots différents, tests de robustesse).

- **Définition des règles de validation des lots de réactifs :**

- exigence contractuelle : présence simultanée de 2 lots de réactifs différents sur le territoire national (lot commun pour QBD Est et Sud et commun pour QBD Ouest et Nord)
- protocole national de contrôle de 1er niveau (réactifs et CQI)
- protocole national de validation à réception (réactifs et CQI)

### 6) Demande de modification des dossiers d'agrément ANSM pour chaque laboratoire QBD

- lié au changement des flux de tubes DGV (modification mineure)
- dépôt T3-T4 2014 : autorisation préalable obligatoire avant déploiement dans les QBD

## Déploiement laboratoires QBD (travaux préparatoires)

### 7) Recrutement techniciens (2 ETP)

- réalisé en amont du déploiement dans les laboratoires QBD (fin 2013/début 2014)
- formation/habilitation postes DGV Ultrio, Parvo/HAV et poolage

### 8) Rédaction documentaire

- rédaction des Analyse de risque QBD spécifiques (postes poolage et Parvo/HAV) selon la méthodologie des APR simplifiés et mise en œuvre le cas échéant des éléments de maîtrise des risques identifiés
- rédaction des modes opératoires

### 9) Modification des règles d'archivage (tri pré-analytique)

- la totalité des tubes DGV doit être conservée en cas de contrôle ou test unitaire (J8 après prélèvement)
  - impact : les expédition de tubes PLER doivent être désormais préparées à partir du tube IHD
- => introduction d'un 3ème tri de tubes après analyse (tube IHD)

## Déploiement dans les laboratoires QBD

Selon les modalités définies dans les documents contractuels EFS/LFB (Cahier des charges EFS/LFB. Contrat de prestation de service).

### Activité Plasmas France :

- pool de 48 dons :
  - démontage en test unitaire pour le HAV dès la phase 1
  - démontage en pools croisées dans un second temps (selon les données obtenues en phase 1 : données de prévalence et évaluation de la faisabilité)
- seuil de positivité théorique (ParvoB19) :  $2 \times 10^4$  UI/ml
- seuil retenu selon les résultats de fidélité (validation méthode) :  $1 \times 10^4$  UI/ml
- Analyse sur tube DGV (et biothèque si absence du tube DGV)
- conservation des pools avant analyse 7 jours à 4°C, au-delà congélation < - 25°C
- conservation des pools après analyse 3 mois à < - 25°C puis transfert vers échantillothèque LFB
- (réglementaire 8 ans à - 35°C)

### Activité Plasmas TAF et Import (pools préparés par le LFB) :

- seuil de positivité identique aux plasmas France (P48)
- assurée par les 4 laboratoires QBD
- Rendu des résultats sur document manuscrit (développement secondaire d'une interface informatique)

### Activité PMH :

- seuil de positivité théorique :  $1 \times 10^4$  UI/ml (seuil retenu : 5000 UI/ml)
- assurée par le laboratoire QBD Nord (et Ouest en secours)



## Déploiement dans les laboratoires QBD Bilan 13/03/2015

**Bilan d'activité (4 laboratoires QBD) : 8803 pools testés (422 394 dons)**

- HAV : aucun pool positif
- ParvoB19 : 24 pools positifs répétables

QBD	Site	Date démarrage	Nombre pools	Nombre de dons	Nbre pools négatifs	RI	RNR	RR
Grand Sud	Montpellier	15/12/2014	2976	142769	2960	16	2	12 (0,40 %)*
Grand Nord	Lille	20/01/2015	2552	122321	2547	5	1	4 (0,16%)
Grand Ouest	Angers	26/01/2015	1650	79200	1644	6	0	6 (0,36%)
Grand Est	Metz-Tessy	02/02/2015	1625	78104	1623	2	0	2 (0,12 %)
<b>Total</b>			<b>8803</b>	<b>422394</b>	<b>8774</b>	<b>29</b>	<b>3</b>	<b>24 (0,27%)</b>

\* En attente de répétabilité

**Prévalence ParvoB19 : 1 / 17 600**