

**THESE**  
**POUR LE DIPLOME D'ÉTAT**  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 10 Octobre 2024**

**Par M<sup>elle</sup> Charlotte Rabache**

---

**Vérification de méthode en sérologie. Étude approfondie des interférences dans le cadre du parvovirus B19.**

---

**Membres du jury :**

**Présidente :** Madame le Professeur Anne GOFFARD, PU-PH, Faculté de Pharmacie de Lille

**Directeur :** Monsieur le Docteur Benjamin DECKMYN, MCU-PH, GHICL

**Assesseurs :** Madame le Docteur Mouna LAZREK, PH, CHU de Lille  
Madame le Docteur Pauline COULON, PH, CHU de Lille

<b>REDACTION</b>	<b>VERIFICATION</b>	<b>APPROBATION</b>
<b>Audrey Hennebelle</b> <b>Assistante de direction</b>	<b>Cyrille Porta</b> <b>Responsable des Services</b>	<b>Delphine Allorge</b> <b>Doyen</b>

### Université de Lille

Président	Régis BORDET
Premier Vice-président	Etienne PEYRAT
Vice-présidente Formation	Corinne ROBACZEWSKI
Vice-président Recherche	Olivier COLOT
Vice-président Ressources humaines	Bertrand DÉCAUDIN
Directrice Générale des Services	Anne-Valérie CHIRIS-FABRE

### UFR3S

Doyen	Dominique LACROIX
Premier Vice-Doyen, Vice-Doyen RH, SI et Qualité	Hervé HUBERT
Vice-Doyenne Recherche	Karine FAURE
Vice-Doyen Finances et Patrimoine	Damien CUNY
Vice-Doyen International	Vincent DERAMECOURT
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires	Sébastien D'HARANCY
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie	Caroline LANIER
Vice-Doyen Territoire-Partenariats	Thomas MORGENROTH
Vice-Doyen Santé numérique et Communication	Vincent SOBANSKI
Vice-Doyenne Vie de Campus	Anne-Laure BARBOTIN
Vice-Doyen étudiant	Valentin ROUSSEL

### Faculté de Pharmacie

Doyen	Delphine ALLORGE
Premier Assesseur et	
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement	Anne GARAT
Assesseur à la Vie de la Faculté et	
Assesseur aux Ressources et Personnels	Emmanuelle LIPKA
Responsable des Services	Cyrille PORTA
Représentant étudiant	Honoré GUISE
Chargé de mission 1er cycle	Philippe GERVOIS
Chargée de mission 2eme cycle	Héloïse HENRY
Chargé de mission Accompagnement et Formation à la Recherche	Nicolas WILLAND
Chargé de mission Relations Internationales	Christophe FURMAN
Chargée de Mission Qualité	Marie-Françoise ODOU
Chargé de mission dossier HCERES	Réjane LESTRELIN

### Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

<b>Civ.</b>	<b>Nom</b>	<b>Prénom</b>	<b>Service d'enseignement</b>	<b>Section CNU</b>
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

### Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
M.	BERLARBI	Karim	Physiologie	86
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86

M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

#### Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

**Maîtres de Conférences des Universités (MCU)**

<b>Civ.</b>	<b>Nom</b>	<b>Prénom</b>	<b>Service d'enseignement</b>	<b>Section CNU</b>
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
Mme	BOU KARROUM	Nour	Chimie bioinorganique	
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FRULEUX	Alexandre	Sciences végétales et fongiques	
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86

M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	LIBERELLE	Maxime	Biophysique - RMN	
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MENETREY	Quentin	Bactériologie - Virologie	
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	ROGEL	Anne	Immunologie	
M.	ROSA	Mickaël	Hématologie	
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87

Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

#### Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mme	KUBIK	Laurence	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

#### Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Hai Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

#### Maîtres de Conférences Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	COUSEIN	Etienne	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86

### Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BOUDRY	Augustin	Biomathématiques	
Mme	DERAMOUDT	Laure	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
Mme	GILLIOT	Sixtine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
M.	GISH	Alexandre	Toxicologie et Santé publique	
Mme	NEGRIER	Laura	Chimie analytique	

### Hospitalo-Universitaire (PHU)

	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DESVAGES	Maximilien	Hématologie	
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	

### Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	BERNARD	Lucie	Physiologie	
Mme	BARBIER	Emeline	Toxicologie	
Mme	COMAPGNE	Nina	Chimie Organique	
Mme	COULON	Audrey	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	DUFOSSEZ	Robin	Chimie physique	
Mme	KOUAGOU	Yolène	Sciences végétales et fongiques	
M.	MACKIN MOHAMOUR	Synthia	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	

### Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	NDIAYE-BOIDIN	Maguette	Anglais
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques



## ***UFR3S-Pharmacie***

**L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.**



# TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS.....	4
TABLE DES FIGURES.....	7
TABLE DES TABLEAUX .....	8
LISTE DES ABREVIATIONS .....	9
INTRODUCTION.....	10
<b>I. Le parvovirus B19 .....</b>	<b>10</b>
1. Classification et découverte.....	10
2. Structure .....	11
3. Cycle viral .....	13
4. Épidémiologie .....	15
5. Transmission .....	16
6. Infection à parvovirus B19 chez la femme enceinte .....	16
7. Manifestations cliniques et biologiques de l'infection à parvovirus B19 : chez l'adulte et l'enfant .....	17
A. Un syndrome pseudo-grippal .....	17
B. Des manifestations rhumatologiques .....	18
C. Des manifestations cutanées .....	18
D. Autres manifestations cliniques plus rares .....	19
E. Des manifestations hématologiques .....	19
8. Manifestations cliniques et biologiques de l'infection à parvovirus B19 : chez le fœtus .....	20
A. La fausse couche spontanée .....	20
B. L'anasarque foeto-placentaire .....	21
C. L'anémie fœtale.....	21
D. Les anomalies congénitales .....	21
9. Diagnostics différentiels de l'infection à parvovirus B19.....	22
10. Autres populations à risque particulier d'infection à parvovirus B19 .....	23
11. Dépistage de l'infection par le parvovirus B19.....	23
A. Chez la femme enceinte.....	23
a) Place de la sérologie maternelle dans le dépistage d'infection par le parvovirus B19 .....	24
b) Place de la PCR dans le dépistage d'infection par le parvovirus B19 chez la femme enceinte .....	27
B. Chez le fœtus .....	28
a) Place de la sérologie dans le dépistage d'infection fœtale par le parvovirus B19 .....	29
b) Place de la PCR dans le dépistage d'infection fœtale par le parvovirus B19 .....	30
C. Chez l'immunodéprimé.....	30
12. Traitements.....	30
A. Chez la femme enceinte.....	30
a) Abstention thérapeutique .....	30
b) Traitement des signes généraux.....	31

c)	Transfusion de culot globulaire .....	31
B.	Chez le fœtus .....	31
a)	Abstention thérapeutique .....	31
b)	Transfusion sanguine intravasculaire in utero.....	31
C.	Chez l'immunodéprimé.....	32
D.	Chez le patient atteint d'anémie hémolytique chronique (thalassémie, drépanocytose).....	32
13.	Prévention de la transmission.....	32
<b>II.</b>	<b>La qualité au laboratoire .....</b>	<b>34</b>
1.	Généralités .....	34
2.	Accréditation.....	35
A.	Le diagramme des 5M ou diagramme causes-effets d'Ishikawa (Figure11).....	36
B.	Le principe d'amélioration de la roue de Deming ou PDCA (Plan Do Check Act).....	37
3.	Le dossier de vérification de méthode .....	38
4.	Problématique.....	40
<b>III.</b>	<b>Matériel et Méthode .....</b>	<b>41</b>
1.	Matériel .....	41
2.	Principe de la méthode.....	42
3.	Limites de quantification, étendues de mesure et interprétation des dosages d'IgM et IgG anti-parvovirus B19 .....	43
4.	Échantillons .....	43
5.	Description des outils statistiques.....	44
<b>IV.</b>	<b>Résultats .....</b>	<b>45</b>
1.	Étude de la répétabilité .....	45
2.	Fidélité intermédiaire .....	46
3.	Étude de l'exactitude .....	48
4.	Comparaison de méthodes.....	50
5.	Étude des interférences.....	51
A.	Étude de l'interférence de l'hémoglobine, d'un ictère et de la lipémie ...	52
B.	Étude de l'interférence de la congélation .....	54
6.	Étude de la contamination inter-échantillon.....	56
<b>V.</b>	<b>Discussion.....</b>	<b>58</b>
1.	Problématique épidémiologique .....	58
2.	Problématique clinique .....	61
A.	Interférences : pourquoi réaliser leur étude ?.....	61
B.	Contamination .....	62
3.	Problématique industrielle .....	63
4.	Challenges rencontrés lors d'une vérification de méthode en sérologie infectieuse .....	64
<b>VI.</b>	<b>Conclusion et perspectives .....</b>	<b>65</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>67</b>	
<b>BIBLIOGRAPHIE.....</b>	<b>74</b>	



## **REMERCIEMENTS**

À ma présidente de jury,

**Madame le Professeur Anne Goffard**, je vous remercie de me faire l'honneur de présider mon jury de thèse. Je tiens également à vous exprimer ma gratitude pour les enseignements que vous dispensez à la faculté de Pharmacie, qui m'ont aidé à préparer le concours de l'internat. Soyez assurée de mon profond respect et de ma sincère reconnaissance.

À mes juges,

**Madame le Docteur Mouna Lazrek**, je vous remercie d'avoir accepté de juger ce travail. C'est toujours dans la bonne humeur que vous avez partagé avec moi vos compétences en virologie durant cette dernière année de stage et je vous en remercie.

**Madame le Docteur Pauline Coulon**, merci d'avoir accepté avec enthousiasme de participer à mon jury de thèse. Je suis profondément reconnaissante pour ta participation à ma formation : tes connaissances et ta disponibilité m'ont permis d'évoluer et de progresser dans mon travail.

À mon directeur de thèse,

**Monsieur le Docteur Benjamin Deckmyn**, c'est sans hésiter que j'ai souhaité que tu m'accompagnes sur ce projet de thèse. Tu m'as guidé dans ce travail avec beaucoup de bienveillance et une grande disponibilité, et je t'en remercie. Je te remercie aussi d'avoir partagé avec moi tes connaissances et de m'avoir proposé ce sujet que j'ai eu plaisir à travailler, et dont les notions acquises me seront utiles tout au long de ma carrière. Sois assuré de mon profond respect et de ma grande reconnaissance.

*Je souhaite également dédier ce travail,*



## **TABLE DES FIGURES**

<b>Figure 1</b> - Représentation générale de la structure du parvovirus B19 (6) .....	12
<b>Figure 2</b> - Représentation schématique des protéines de capsid du parvovirus B19 (7).....	12
<b>Figure 3</b> - Cycle cellulaire des virus à ADN (8) .....	13
<b>Figure 4</b> - Cycle de réplication du parvovirus B19 d'après Qiu et al.(13) .....	15
<b>Figure 5</b> - Aspect en « joues giflées » typique du mégalérythème épidémique (23). 19	
<b>Figure 6</b> - Schéma récapitulatif des complications fœtales en cas d'infection par le parvovirus B19 et leurs fréquences en fonction de l'âge gestationnel (29).....	22
<b>Figure 7</b> - Schéma de l'évolution d'une primo-infection par le parvovirus B19 d'après la fiche informative sur le parvovirus B19 de l'AVIQ, version 2016 (30) .....	24
<b>Figure 8</b> - Évolution sérologique et clinique de l'infection par le parvovirus B19 en fonction du temps (19) .....	25
<b>Figure 9</b> - Algorithme décisionnel en fonction des résultats de la sérologie maternelle parvovirus B19 chez la femme enceinte inspiré de C.Brochot et al. (29) .....	28
<b>Figure 10</b> - Processus de l'analyse de biologie médicale.....	35
<b>Figure 11</b> - Représentation du diagramme des 5M d'Ishikawa « en arêtes de poisson » (41) .....	37
<b>Figure 12</b> - Représentation graphique de la roue de Deming (43).....	38
<b>Figure 13</b> - Automate Liaison XL (Diasorin) (46).....	41
<b>Figure 14</b> – Principe de la méthode ELISA sandwich indirect adapté de BiOutils (47) .....	42
<b>Figure 15</b> - Abaque de lecture pour l'hémoglobine.....	53
<b>Figure 16</b> - Abaque de lecture pour la lipémie .....	54
<b>Figure 17</b> - Nombre de tests IgM positifs pour infection à parvovirus B19 et taux de positivité global dans les trois catégories de la population (enfants, femme de 20 à 40 ans, et autres), en France, de janvier 2019 à mai 2024, d'après Santé Publique France (52).....	60

## **TABLE DES TABLEAUX**

<b>Tableau I</b> - Limites de quantifications et étendues de mesure pour le dosage des IgM et IgG anti-parvovirus B19 .....	43
<b>Tableau II</b> - Interprétation des dosages d'IgM et d'IgG anti-parvovirus B19.....	43
<b>Tableau III</b> - Résultats des tests de répétabilité pour les IgM anti-parvovirus B19....	45
<b>Tableau IV</b> - Résultats des tests de répétabilité pour les IgG anti-parvovirus B19 ...	46
<b>Tableau V</b> - Résultats des tests de fidélité intermédiaire pour les IgM anti-parvovirus B19.....	47
<b>Tableau VI</b> - Résultats des tests de fidélité intermédiaire pour les IgG anti-parvovirus B19.....	47
<b>Tableau VII</b> - Résultats des tests d'exactitude pour les IgM anti-parvovirus B19.....	49
<b>Tableau VIII</b> - Résultats des tests d'exactitude pour les IgG anti-parvovirus B19.....	49
<b>Tableau IX</b> - Accord entre 2 méthodes évaluées en fonction du coefficient de Kappa de Cohen K. ....	50
<b>Tableau X</b> - Résultats de la comparaison de méthode pour les IgM anti-parvovirus B19.....	50
<b>Tableau XI</b> - Résultats de la comparaison de méthode pour les IgG anti-parvovirus B19.....	51
<b>Tableau XII</b> - Résultats des sérologies IgM et IgG anti-parvovirus B19 à T1 et T2...	55
<b>Tableau XIII</b> - Résultats des tests de contamination pour les IgM anti-parvovirus B19. ....	56
<b>Tableau XIV</b> - Résultats des tests de contamination pour les IgG anti-parvovirus B19. ....	57

## **LISTE DES ABREVIATIONS**

<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique
<b>AINS</b>	Anti-inflammatoires non stéroïdiens
<b>ARN</b>	Acide ribonucléique
<b>BFU-E</b>	Burst-forming unit of erythroid cells
<b>CépiDC</b>	Centre d'épidémiologie sur les causes médicales de décès
<b>CFU-E</b>	Colony-forming unit of erythroid cells
<b>COFRAC</b>	Comité français d'accréditation
<b>CQI</b>	Contrôle de qualité interne
<b>CTCB</b>	Centre toulousain pour le contrôle de qualité en biologie clinique
<b>CV</b>	Coefficient de variation
<b>EDTA</b>	Éthylènediaminetétraacétate
<b>EEQ</b>	Évaluation externe de qualité
<b>ELISA</b>	Enzyme linked immunosorbent assay
<b>EPO</b>	Érythropoïétine
<b>EpoR</b>	Récepteur de l'érythropoïétine
<b>GBEA</b>	Guide de Bonne Exécution des Analyses
<b>HIF-1</b>	Hypoxia inducible factor-1
<b>HIL</b>	Hémolyse, Ictère, Lipémie
<b>HPV</b>	Human parvovirus
<b>IgM</b>	Immunoglobuline de type M
<b>IgG</b>	Immunoglobuline de type G
<b>ISO</b>	International organization for standardization
<b>LED</b>	Lupus érythémateux disséminé
<b>OMS</b>	Organisation mondiale de la santé
<b>PCR</b>	Polymerase chain reaction
<b>PSV-ACM</b>	Pic systolique de vélocité de l'artère cérébrale moyenne foétale
<b>RLU</b>	Unités relatives de luminescence
<b>Réseau OSCOUR</b>	Organisation de la surveillance coordonnée des urgences
<b>SA</b>	Semaines d'aménorrhées
<b>SPLV</b>	Serum parvovirus-like virus

## **INTRODUCTION**

Le parvovirus B19 est un virus à ADN à l'origine d'infections bénignes dans la plupart des cas. Cependant, il peut représenter une situation à risque de complications dans des populations ciblées, notamment chez les femmes enceintes et les personnes immunodéprimés (par exemple, les patients atteints d'hémopathies). Son dépistage par sérologie constitue un élément clé dans la démarche diagnostique, laquelle s'appuie sur un faisceau d'arguments cliniques et biologiques.

Dans le cadre d'un changement de réactifs imposé par la société Diasorin sur l'analyseur Liaison XL, ce travail de thèse a eu pour objectif une réflexion globale sur la sérologie parvovirus B19 en vue d'établir un dossier de vérification de méthode adapté selon les recommandations de la norme NF EN ISO 15189.

### **I. Le parvovirus B19**

#### **1. Classification et découverte**

Le parvovirus B19 est un petit virus à ADN découvert de manière fortuite par Cossart *et al.* en 1975 au Royaume-Uni. Lors de la recherche de l'antigène HBs du virus de l'hépatite B dans des poches de donneurs de sang, des réactions faussement positives ont été observées par immunoélectrophorèse. En effet, l'examen des sérums concernés par microscopie électronique mettait en évidence des agrégats de particules rondes, non enveloppées, évoquant une particule virale. L'analyse de leur génome a ensuite identifié ces particules comme étant le parvovirus B19.

Du latin « *parvum* » qui signifie « petit », ce virus fut appelé successivement serum parvovirus-like virus (SPLV), human parvovirus (HPV) puis parvovirus B19, initiales identifiant la poche de sang dans laquelle il a été identifié pour la première fois (échantillon numéro 19 sur le panel B) (1). Son rôle pathogène a été identifié pour la première fois en 1981 par J. Pattinson *et al.* lors du diagnostic de crise d'érythroblastopénie aiguë chez un patient drépanocytaire atteint d'une infection par le parvovirus B19 (2).

Il appartient à la famille des *Parvoviridae*, sous-famille des *Parvovirinae*, genre *Érythroparvovirus*. Le séquençage du génome du parvovirus B19 a permis d'identifier trois génotypes différents. Le génotype 1 contient les souches prototypes B19 et prédomine en Europe et aux États-Unis. Il est divisé en deux sous-groupes : les génotypes 1a et 1b. Le génotype 2 regroupe les isolats A6 et LaLi. Le génotype 3 qui contient les isolats V9, identifiés principalement en Afrique de l'Ouest. Il est divisé en deux sous-groupes : 3a et 3b (3,4).

## 2. Structure

De l'ordre de 20 nm, le génome du parvovirus B19 est constitué d'environ 5 600 paires de bases. Il s'agit d'un virus à ADN monocaténaire et non enveloppé, ce qui lui confère une résistance chimique et physique élevée. Il possède une capsidie de symétrie icosaédrique.

Un nombre limité de protéines est codé par le génome du parvovirus B19 :

- VP1 et VP2 : les protéines qui composent la capsidie virale,
- La protéine NS1 : une protéine non structurale,
- 2 protéines de 11 et 7,5 kDa, dont le rôle n'a pas été clairement identifié à ce jour.

La capsidie icosaédrique est constituée de deux protéines virales (**Figures 1 et 2**):

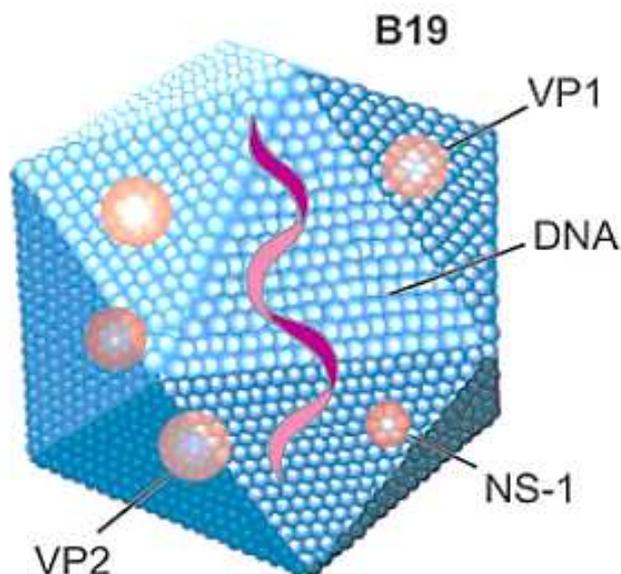
- VP1 : la protéine de capsidie mineure. Elle représente 5 % de la capsidie et permet la pénétration du virus au sein des cellules cibles. Par son activité enzymatique de type phospholipase A2, elle intervient dans le transport de la particule virale vers le noyau, site de la réplication virale,
- VP2 : la protéine de capsidie majeure. Elle compose 95 % de la capsidie virale. Elle est impliquée dans la fixation des particules virales à leurs cellules cibles et dans l'assemblage des particules virales.

VP1 et VP2 partagent une séquence commune correspondant à la partie C-terminale de VP1. La région N-terminale de VP1, appelée VP1 unique (VP1u) (5), contient la séquence portant l'activité enzymatique de type phospholipase A2 (**Figure 2**).

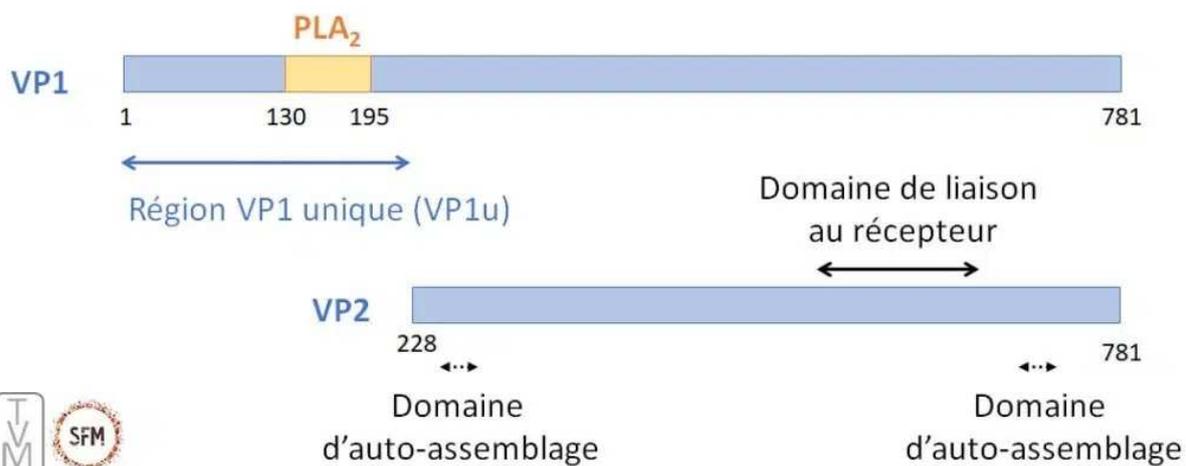
La protéine non structurale NS1 intervient dans la réplication virale et l'apoptose cellulaire (5).

VP1, VP2 et NS1 sont la cible des immunoglobulines de type M (IgM) et de type G (IgG) anti-parvovirus B19.

Les extrémités 5' et 3' du génome du parvovirus B19 sont recourbées « en épingle à cheveux » au niveau de séquences palindromiques complémentaires.



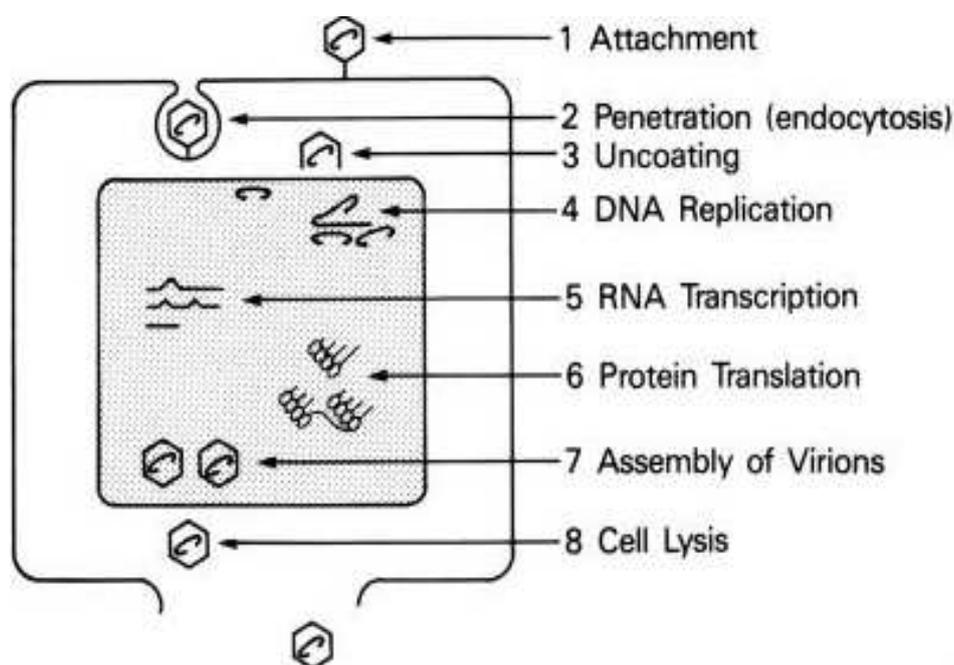
**Figure 1** - Représentation générale de la structure du parvovirus B19 (6)



**Figure 2** - Représentation schématique des protéines de capsid du parvovirus B19 (7)

### 3. Cycle viral

Le parvovirus B19 suit le cycle cellulaire classique des virus à ADN (**Figure 3**). Après fixation aux récepteurs de la cellule hôte (étape 1), le virus est internalisé par endocytose (étape 2) et décapsidé (étape 3). Une étape de translocation du génome viral lui permet de pénétrer au sein du noyau de l'hôte où se déroule la réplication de l'ADN par l'ADN polymérase (étape 4). Puis, la transcription de l'ADN par une ARN polymérase (étape 5) aboutit à la formation d'ARN messager traduit en protéines de structure par le ribosome (étape 6). Après assemblage des protéines virales (étape 7), les virions matures sont alors formés et seront libérés par lyse cellulaire (étape 8).



**Figure 3** - Cycle cellulaire des virus à ADN (8)

La réplication du parvovirus B19 se fait au sein des cellules précurseurs de la lignée érythroïde, essentiellement dans les cellules BFU-E (Burst-forming unit of erythroid cells) et CFU-E (colony-forming unit of erythroid cells), présentes dans la moelle osseuse chez l'adulte, et dans le foie et le cordon ombilical chez le fœtus. Cela a toute son importance pour la physiopathologie de l'infection au parvovirus B19.

Le principal récepteur cellulaire du parvovirus B19 est l'antigène P, aussi appelé « globoside ». Il est retrouvé à la surface des cellules de la lignée érythrocytaire (érythrocytes matures et progéniteurs érythroïdes), mais également de manière beaucoup plus ubiquitaire au sein de l'organisme : sur les mégacaryocytes, les

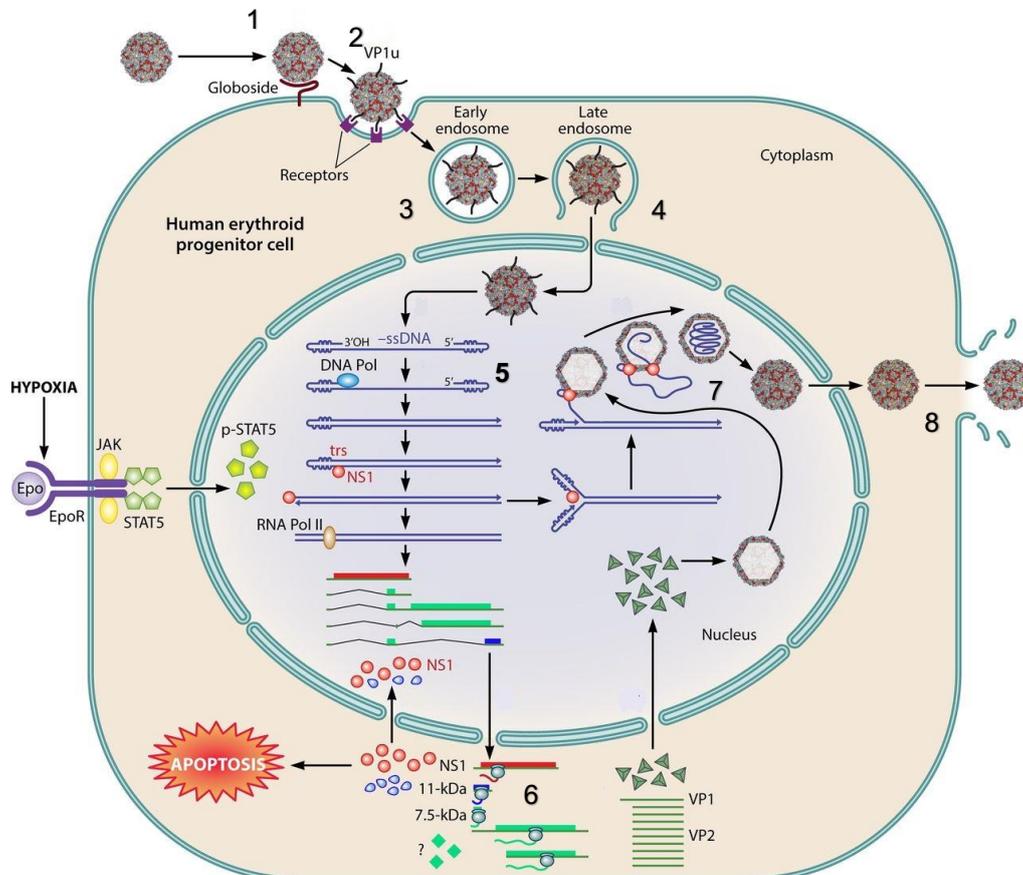
granulocytes, les cellules endothéliales, les hépatocytes, les cellules rénales, les cardiomyocytes et les cellules trophoblastiques placentaires. Ce tropisme élevé pour les cellules portant l'antigène P explique la variabilité des manifestations cliniques et biologiques liée à l'infection par le parvovirus B19 (9).

Une rare partie de la population, désignée « phénotype p », est dépourvue d'antigène P, ce qui lui confère une protection naturelle contre l'infection à parvovirus B19. Sa prévalence serait estimée à 1/200 000 (5).

L'antigène P est indispensable à la liaison du parvovirus B19 à la cellule cible, mais ne permet pas à lui seul l'entrée du virus. Les corécepteurs membranaires  $\alpha 5\beta 1$  (10) et Ku80 (11) sont nécessaires à l'internalisation du virus au sein de la cellule cible.

Après liaison du parvovirus B19 à l'antigène P (étape 1), la capsid virale subit un changement de conformation permettant l'exposition de VP1u (étape 2) et l'internalisation du virus dans le cytoplasme de la cellule cible par endocytose (étape 3). Après décapsidation, le virus gagne le noyau (étape 4) où aura lieu la réplication par l'action de l'ADN polymérase : l'ADN viral simple brin est transformé en ADN double brin (étape 5). La transcription du génome viral par l'ARN polymérase en phase S du cycle cellulaire permet la synthèse d'ARN messager à partir d'ADN. Les transcrits migrent dans le cytoplasme où a lieu la traduction, soit la synthèse de protéines virales par le ribosome à partir d'ARN messager (étape 6). Une pro-capsid est alors formée dans le cytoplasme à partir des protéines de structure VP1 et VP2. Celle-ci est transportée dans le noyau, où l'encapsidation des molécules d'ADN simple brin permet la formation de particules virales matures (étape 7). Les nouveaux virions formés sont libérés par lyse cellulaire (étape 8) (**Figure 4**).

De manière intéressante, l'érythropoïétine (EPO), en se fixant à son récepteur (EPOR), active la voie JAK-STAT qui déclenche une cascade de phosphorylation et participe à la prolifération cellulaire du parvovirus B19. En situation d'hypoxie, l'organisme augmente la production de précurseurs érythroïdes dans la moelle osseuse par l'intermédiaire du facteur cellulaire majeur de réponse à l'hypoxie, HIF-1 (hypoxia inducible factor-1), ce qui stimule la réplication virale du parvovirus B19 (12).



**Figure 4** - Cycle de réplication du parvovirus B19 d'après Qiu *et al.*(13)

#### 4. Épidémiologie

Le parvovirus B19 est un virus ubiquitaire présent dans le monde entier. Il est responsable d'infections fréquentes dont la séroprévalence augmente avec l'âge : environ 15% des enfants en âge préscolaire, 50% des adultes et 85 % des personnes âgées seraient immunisés contre le parvovirus B19 (14).

La primo-infection à parvovirus B19 est plus fréquente durant l'enfance, constituant un risque de transmission aux femmes enceintes non immunisées en contact avec des enfants en bas âge.

Le parvovirus B19 peut être responsable de cas sporadiques ou d'épidémies survenant principalement à la fin de l'hiver ou au début du printemps dans les zones tempérées. Des pics épidémiques de plus grande envergure sont observés avec une périodicité d'environ 4 ans (15).

## 5. Transmission

Le principal mode de transmission du parvovirus B19 est la voie respiratoire. La contamination se fait par contact direct avec les sécrétions respiratoires infectées en suspension dans l'air. Les jeunes enfants représentent la principale population à l'origine de cette contamination. L'excrétion virale dans les sécrétions respiratoires peut se faire jusqu'à 7 jours après l'apparition des symptômes.

Une transmission materno-foetale par passage de la barrière placentaire a été rapportée et explique les symptômes fœtaux liés à l'infection par le parvovirus B19.

Bien que rare, il existe en cas de forte virémie un risque de transmission du parvovirus B19 par voie parentérale, dans un contexte de transfusion de produits sanguins labiles. Ce mode de contamination serait plus fréquent au cours de l'administration de concentrés de facteurs de coagulation obtenu à partir d'un pool de plasma humain. En effet, l'absence d'enveloppe permet au parvovirus B19 de résister aux procédés de purification des pools de plasmas de donneurs. D'après une étude réalisée de 1996 à 2005 au cours de laquelle le dépistage du génome du parvovirus B19 a été effectué sur 24,2 millions de dons, le risque qu'un don soit contaminé par le parvovirus B19 avec une charge virale supérieure à  $10^4$  UI/ml a été estimé à 1/8 200 (16).

La transmission par transplantation d'organes a également été décrite (17).

## 6. Infection à parvovirus B19 chez la femme enceinte

Les statistiques démontrent que 50 à 75 % des femmes en âge de procréer seraient immunisées contre le parvovirus B19 (18). Du fait de la prévalence importante de l'infection au parvovirus B19 chez les enfants, le risque de primo-infection en cours de grossesse est d'autant plus important chez les femmes en contact étroit avec des enfants en bas âge. Les femmes exerçant une activité professionnelle en lien avec l'enfant (institutrices, assistantes maternelles, puéricultrices etc.) ainsi que les femmes au foyer présentent un risque accru de développer une primo-infection au parvovirus B19 durant la grossesse.

Toutefois, il a été rapporté que le risque de contamination intrafamilial (infection transmise par ses propres enfants) est plus élevé comparé au risque d'infection dans le cadre professionnel (19). D'après Crane *et al*, dans une population de femmes non immunisées et exposées au parvovirus B19, 20 à 30 % des femmes exposées dans le cadre professionnel présenteront une infection, contre 50 % des femmes exposées par l'intermédiaire de contacts au foyer. La primo-infection à parvovirus B19 toucherait environ 1 à 3 % des femmes enceintes non-immunisées pendant la grossesse, et jusqu'à plus de 10 % en période d'épidémie (20).

Au cours d'une primo-infection à parvovirus B19 chez une femme enceinte, il existe un risque de passage de la barrière transplacentaire par les particules virales via leur fixation sur l'antigène P présent à la surface des cellules trophoblastiques. Le risque de transmission verticale au fœtus varie de 17 % à 30 % lors d'une primo-infection au cours de la grossesse (21,22).

La femme enceinte présente les manifestations cliniques habituelles du sujet adulte immunocompétent. Elles sont hétérogènes d'un individu à l'autre. En effet, dans un tiers des cas, l'infection au parvovirus B19 est totalement asymptomatique et passe inaperçue.

## 7. Manifestations cliniques et biologiques de l'infection à parvovirus B19 : chez l'adulte et l'enfant

Après une période d'incubation moyenne de 13 à 18 jours, des signes cliniques non spécifiques peuvent se manifester, correspondant à l'apparition des anticorps de type IgM dirigés contre le parvovirus B19.

Les symptômes les plus fréquents décrits au cours d'une primo-infection à parvovirus B19 sont les suivants :

### A. Un syndrome pseudo-grippal

Le patient atteint d'une infection par le parvovirus B19 peut présenter une hyperthermie, des myalgies, une asthénie, ainsi que des céphalées. Ces symptômes

non spécifiques apparaissent durant la phase précoce de l'infection et correspondent le plus souvent à la phase virémique.

### B. Des manifestations rhumatologiques

Une polyarthralgie des mains, poignets, chevilles ou genoux peut se manifester au cours d'une infection à parvovirus B19. Plus rare chez l'enfant, il s'agit du symptôme le plus couramment décrit chez l'adulte : il concernerait 50 % des femmes enceintes atteintes de l'infection. Les douleurs peuvent persister plusieurs semaines voire plusieurs mois (18).

### C. Des manifestations cutanées

Un mégalérythème épidémique ou « cinquième maladie », en référence à la cinquième place dans la liste des infections éruptives courantes au cours de l'enfance. C'est un symptôme caractéristique de l'infection à parvovirus B19 chez l'enfant. Il est plus rare chez l'adulte. Il s'agit d'une éruption maculo-papuleuse bénigne qui siège initialement au niveau des joues, donnant un aspect « en visage giflé » ou « en dentelle » (**Figure 5**). Il s'étend progressivement au tronc et aux extrémités et peut s'accompagner d'hyperthermie, de toux ou d'écoulement nasal.

Au cours des semaines suivantes, des épisodes de récurrence de l'exanthème sont possibles après une exposition au soleil ou à la chaleur, ou en cas de fièvre, d'effort ou de stress émotionnel.

L'éruption cutanée et les symptômes articulaires apparaissent généralement de manière retardée par rapport au syndrome pseudo-grippal. Ils sont très probablement causés par le dépôt de complexes immuns antigène-anticorps au niveau de la peau et des articulations.



**Figure 5** - Aspect en « joues giflées » typique du mégalérythème épidémique (23)

#### D. Autres manifestations cliniques plus rares

D'autres manifestations cliniques plus rares liées à l'infection à parvovirus B19 ont été rapportées :

- Des hépatites aiguës (24) ou chroniques (25),
- Des myocardites,
- Des troubles neurologiques : méningites, encéphalites (6,26),
- Des atteintes rénales (27).

#### E. Des manifestations hématologiques

Cette manifestation biologique de l'infection à parvovirus B19 est fréquemment observée. Compte tenu du tropisme élevé du parvovirus B19 pour les cellules des lignées érythrocytaires de la moelle osseuse, l'infection provoque une hémolyse et une érythroblastopénie à l'origine d'une anémie arégénérative (18). Une perturbation des autres lignées hématopoïétiques a été décrite : l'infection à parvovirus B19 peut également être à l'origine d'une neutropénie, d'une thrombopénie voire d'une pancytopénie. Chez le patient immunocompétent et en l'absence de maladie hématologique affectant les globules rouges (thalassémie, drépanocytose), l'anémie est modérée, transitoire et spontanément résolutive.

## 8. Manifestations cliniques et biologiques de l'infection à parvovirus B19 : chez le fœtus

De par l'immaturation de son système immunitaire, le fœtus peine à éliminer le virus en cas de transmission materno-foetale. Dans la majorité des cas, l'infection foetale est asymptomatique et spontanément résolutive. Cependant, il se peut que des complications sévères surviennent : des cas de fausses couches spontanées, d'anasarques foetoplacentaires et d'anémie foetale ont été rapportés. En moyenne, les symptômes foetaux apparaissent six semaines après l'infection maternelle, mais ce délai peut être allongé jusqu'à plusieurs mois dans de rares cas.

L'âge gestationnel au moment de l'infection par le parvovirus B19 impacte l'incidence de la transmission verticale de la mère à l'enfant, ainsi que la morbidité et la mortalité foetale. Le deuxième trimestre de grossesse est la période la plus à risque d'issue négative après une primo-infection par le parvovirus B19. En effet, il a été rapporté que les complications foetales seraient plus fréquentes avant 20 semaines d'aménorrhée (19). Cela pourrait être expliqué par une diminution de la présence d'antigène P sur la couche trophoblastique placentaire avec l'avancée de l'âge gestationnel (20). De plus, le fœtus est plus vulnérable à l'infection par le parvovirus B19 au deuxième trimestre de la grossesse lorsque le foie est la principale source d'activité hématopoïétique.

Les manifestations cliniques et biologiques de l'infection par le parvovirus B19 chez le fœtus sont les suivantes :

### A. La fausse couche spontanée

Une infection foetale par le parvovirus B19 peut provoquer une fausse couche spontanée. Le risque de survenue d'une fausse couche spontanée varie en fonction de l'âge gestationnel : d'après Crane *et al.*, il est estimé à 13 % avant 20 semaines d'aménorrhées (SA) et chute drastiquement à 0,5 % après 20 SA (18).

## B. L'anasarque foeto-placentaire

L'anasarque foeto-placentaire, ou « hydrops fetalis » se définit par une accumulation anormale et excessive de liquide amniotique dans le compartiment extravasculaire et les cavités fœtales. Elle se manifeste par un œdème sous-cutané, un épanchement pleural ou péricardique, des ascites, un œdème placentaire ou un œdème du cordon ombilical. C'est un signe non spécifique d'infection à parvovirus B19. L'anasarque est généralement découvert de manière fortuite lors d'un examen échographique prénatal de routine (28).

Le risque d'anasarque est étroitement lié à l'âge gestationnel au moment de l'infection. L'anasarque représente environ 3,5 % des complications. Elle survient essentiellement au deuxième trimestre de grossesse avec un pic d'incidence à 22 SA. Le risque devient quasiment nul après 28 SA (1 %) (**Figure 6**). Il a été décrit que les anasarques peuvent régresser et disparaître spontanément dans 34 % des cas non sévères, mais également évoluer et entraîner une mort fœtale *in utero* dans 30 % des formes sévères en l'absence de traitement (29).

## C. L'anémie fœtale

Au même titre que chez l'adulte, l'infection à parvovirus B19 peut entraîner chez le fœtus une anémie arégénérative due à l'apoptose des érythroblastes à la fin du cycle viral. Les hématies fœtales ont une durée de vie réduite (de 45 à 70 jours), ce qui rend le fœtus vulnérable à toute atteinte de l'érythropoïèse. L'anémie peut être sévère et contribue au risque de développement d'anasarque fœtale et d'insuffisance cardiaque.

## D. Les anomalies congénitales

À ce jour, il n'a pas été prouvé que l'infection par le parvovirus B19 puisse accroître le risque d'anomalies congénitales chez l'Homme, bien que des cas de malformations musculosquelettiques ou oculaires aient été rapportés. Leur incidence semble se rapprocher de celle de la population générale. L'infection par le parvovirus B19 n'est pas reconnue comme ayant un effet tératogène chez l'Homme (22).

Terme	Complications
< 12 SA	<p>Avortements spontanés et morts in utero (11 à 15%)</p> <p>Anémie, thrombopénie, myocardite virale</p> <p>Anasarque foeto-placentaire (1%)</p> <p>Anasarque foeto-placentaire (3,9%)</p> <p>Morts in utero (2,3%)</p>
12- 20 SA	
20-28 SA	
> 28 SA	

**Figure 6** - Schéma récapitulatif des complications fœtales en cas d'infection par le parvovirus B19 et leurs fréquences en fonction de l'âge gestationnel (29)

### 9. Diagnostics différentiels de l'infection à parvovirus B19

La présence d'éruption cutanée peut faire évoquer d'autres maladies éruptives telles que la rougeole, la rubéole, la varicelle ou la roséole, comme diagnostic différentiel d'une infection par le parvovirus B19.

L'association de signes cutanés avec la symptomatologie rhumatismale souvent observée au cours d'une infection à parvovirus B19 peut également faire évoquer une maladie auto-immune telle que le Lupus Érythémateux Disséminé (LED). L'infection à parvovirus B19 est donc à envisager comme diagnostic différentiel du LED.

L'infection à parvovirus B19 a été suspectée d'être un élément déclencheur de pathologies auto-immunes, mais cette hypothèse reste controversée.

## 10. Autres populations à risque particulier d'infection à parvovirus B19

Hormis dans le contexte d'infection materno-foetale, la virulence de l'infection à parvovirus B19 dépend du terrain hématologique et immunologique du patient.

En effet, les manifestations cliniques de l'infection à parvovirus B19 peuvent être plus importantes chez les patients immunodéprimés (patients sous chimiothérapie, greffés d'organes solides sous immunosuppresseurs, infectés par le VIH etc.) ainsi que chez les patients souffrant d'anémie hémolytique chronique (patients atteints par une thalassémie, une drépanocytose etc.).

Chez les individus immunodéprimés, le déficit immunitaire altère la production d'anticorps et donc l'élimination du virus. La destruction des précurseurs érythroïdes peut persister et conduire à l'installation d'une anémie arégénérative chronique.

Chez les individus atteints d'anémie hémolytique chronique, l'infection par le parvovirus B19 peut déclencher une crise érythroblastopénique aiguë et transitoire (18).

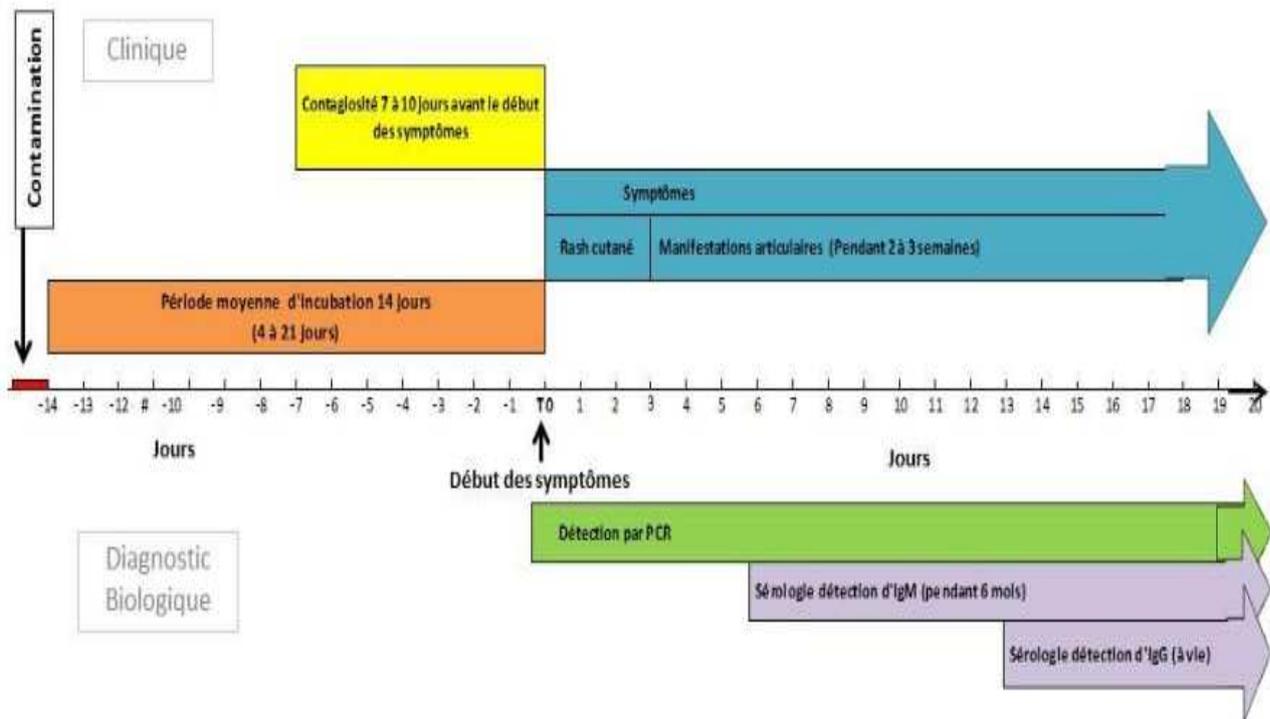
## 11. Dépistage de l'infection par le parvovirus B19

### A. Chez la femme enceinte

Le dépistage de l'infection par le parvovirus B19 n'est pas obligatoire chez la femme enceinte. Toutefois, en cas d'exposition ou de présentation clinique maternelle ou fœtale évocatrice d'infection par le parvovirus B19, il convient de réaliser un dépistage chez la femme enceinte.

Le diagnostic d'infection par le parvovirus B19 chez la femme enceinte peut être confirmé par une technique sérologique et éventuellement complété par une PCR sur sang.

Le choix de la technique de dépistage dépend du délai écoulé depuis le début des symptômes (**Figure 7**).



**Figure 7** - Schéma de l'évolution d'une primo-infection par le parvovirus B19 d'après la fiche informative sur le parvovirus B19 de l'AVIQ, version 2016 (30)

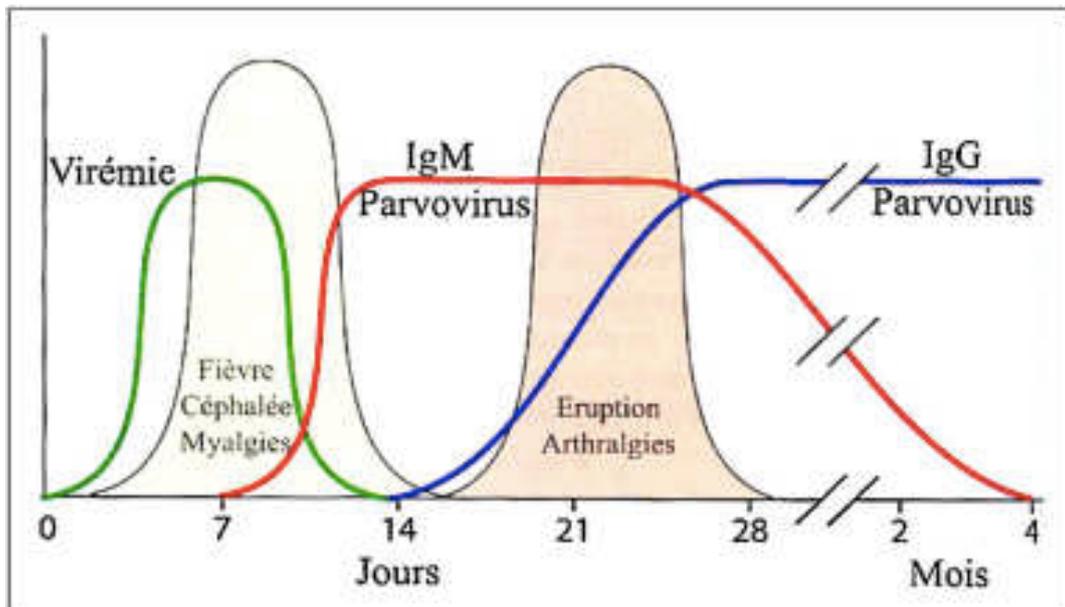
a) *Place de la sérologie maternelle dans le dépistage d'infection par le parvovirus B19*

Au cours de ce travail, notre attention s'est particulièrement portée sur le dépistage de l'infection par le parvovirus B19 par la sérologie maternelle.

La détection d'anticorps de type IgM ou IgG dirigés contre les antigènes de capsid VP1 ou VP2 est réalisée de manière quantitative au sein des laboratoires de biologie médicale. L'une des techniques biologiques très répandues pour assurer cette quantification est la technique immuno-enzymatique ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay).

D'un point de vue cinétique, les anticorps de type IgM anti-parvovirus B19 apparaissent une semaine après l'apparition des symptômes. Ils peuvent être positifs jusqu'à 6 mois, auquel cas, le terme d'« IgM résiduelles » peut être utilisé.

La séroconversion des IgG anti-parvovirus B19 se fait quelques jours après celle des IgM. Les IgG persistent à vie et confèrent une immunité naturelle et durable contre le virus (**Figure 8**).



**Figure 8** - Évolution sérologique et clinique de l'infection par le parvovirus B19 en fonction du temps (19)

Une sérologie initiale permet de connaître le statut immunitaire de la mère vis-à-vis du parvovirus B19. Compte tenu de la durée moyenne d'incubation du virus, il est recommandé de contrôler la sérologie maternelle après deux semaines afin d'évaluer l'évolution de la cinétique des anticorps. Seule la présence d'IgG sur un sérum anté-conceptionnel permet d'exclure la survenue d'une primo-infection en cours de grossesse.

La sérologie parvovirus B19 peut donner les résultats suivants (**Figure 9**) :

- Absence d'IgM et d'IgG anti-parvovirus B19

En cas d'absence d'IgM et d'IgG anti-parvovirus B19, le profil sérologique est en faveur d'une absence d'immunité contre le parvovirus B19. Toutefois, une sérologie négative ne peut exclure une infection récente. Le résultat est à confronter au contexte clinique et immunitaire de la patiente, et peut être complété par la réalisation d'une PCR parvovirus B19 si nécessaire. Si le profil sérologique n'a pas évolué sur le contrôle réalisé à J15 chez une patiente immunocompétente, l'absence d'immunité contre le parvovirus B19 est probable. La patiente semble n'avoir jamais contracté l'infection et doit appliquer les mesures de prévention contre celle-ci.

- Présence d'IgG, absence d'IgM anti-parvovirus B19

En cas de présence d'IgG anti-parvovirus B19 sans IgM, il n'y a pas d'argument sérologique en faveur d'une primo-infection récente : le résultat est compatible avec une immunité ancienne contre le parvovirus B19. Dans ce cas, la patiente ne risquerait pas de contracter l'infection au cours de la grossesse. Toutefois, on ne peut exclure une primo-infection en cours sans détection d'IgM. En effet, il est possible que le prélèvement ait été réalisé dans la fenêtre entre la disparition des IgM et l'apparition des IgG, ou que les IgM aient une fenêtre de détection très courte : on parle alors d'« IgM fugaces ». Si le contrôle sérologique réalisé à J15 montre une ascension du titre en IgG, une primo-infection doit être suspectée. Le bilan biologique peut être complété par une PCR parvovirus B19 en cas de suspicion d'infection récente.

- Présence d'IgM, absence d'IgG anti-parvovirus B19

En cas de présence d'IgM sans IgG anti-parvovirus B19, le résultat est en faveur d'une primo-infection récente par le parvovirus B19. Une réaction croisée et une réaction non spécifique en IgM doivent également être envisagées. La réalisation d'une PCR parvovirus B19 sur sang maternel est recommandée afin de confirmer la présence d'une infection en cours. Il est conseillé de réaliser un contrôle sérologique après 7 à 15 jours pour apprécier l'évolution des titres en anticorps : une séroconversion des IgG permettra de confirmer le diagnostic de primo-infection.

- Présence d'IgM faiblement positive associée à des IgG anti-parvovirus B19

En cas de présence d'IgM anti-parvovirus B19 faiblement positives associées à des IgG, une primo-infection semi-récente, une persistance d'IgM, une réaction croisée ou une réaction non spécifique en IgM doivent être évoquées. Il convient de réaliser une PCR parvovirus B19 sur sang maternel afin de détecter une infection en cours. Un contrôle sérologique à J15 est recommandé afin d'apprécier la cinétique des anticorps : la diminution du titre en IgM et l'augmentation du titre en IgG seront en faveur d'une primo-infection semi-récente.

- Recherche équivoque et isolée en IgM anti-parvovirus B19

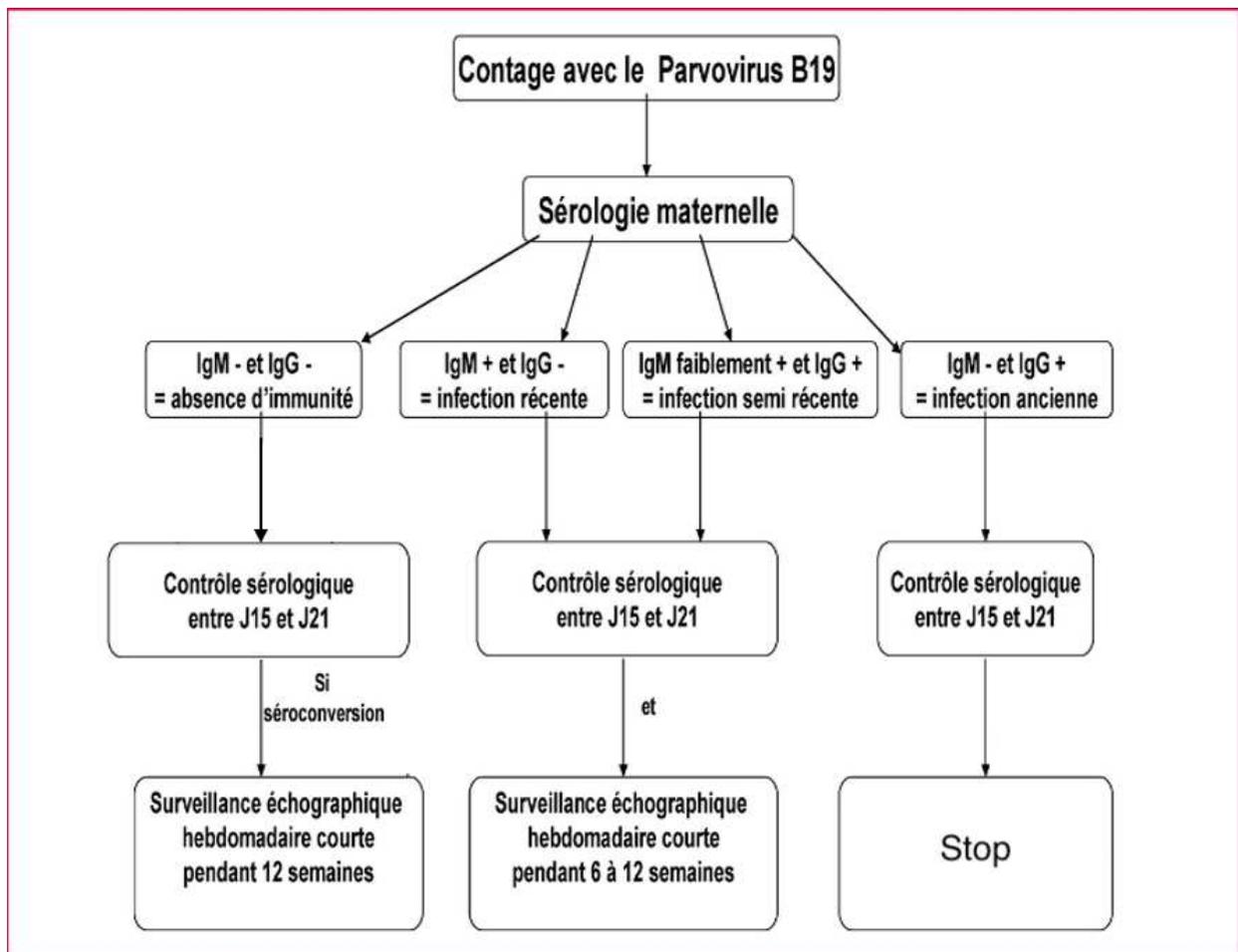
Ce résultat peut correspondre à un début d'infection, une réaction croisée ou une réaction non spécifique en IgM. Le contrôle sérologique à J15 et la réalisation d'une PCR parvovirus B19 permettront de compléter le bilan biologique en cas de contexte clinique évocateur d'infection.

*b) Place de la PCR dans le dépistage d'infection par le parvovirus B19 chez la femme enceinte*

La PCR parvovirus B19 dans le sang maternel peut être réalisée en cas de suspicion d'infection. Elle permet de compléter un bilan sérologique douteux si la situation clinique ou immunitaire de la patiente le justifie.

En tenant compte du faisceau d'arguments cliniques et biologiques (bilans échographiques, résultats de sérologie, notion d'exposition...), il convient d'informer la patiente sur le risque de développer des complications et de juger de la nécessité ou non de mettre en place un suivi particulier de la grossesse.

Lorsqu'une infection par le parvovirus B19 est diagnostiquée chez une femme enceinte, celle-ci doit être dirigée vers un centre de soin de type III, spécialisé en médecine fœto-maternelle, afin de réaliser un suivi étroit de la grossesse (18). Pendant 12 semaines, une surveillance du développement fœtal par échographie Doppler et monitoring fœtal hebdomadaire sera instaurée. Elle a pour but de détecter l'apparition d'éventuelles anomalies comme une anémie fœtale ou une anasarque foeto-placentaire et d'en apprécier l'évolution. L'échographie Doppler mesure le pic systolique de vélocité de l'artère cérébrale moyenne fœtale (PSV-ACM). En cas d'anémie fœtale, il y a une augmentation de la vitesse systolique de l'artère cérébrale moyenne secondaire à la diminution de la viscosité sanguine et à l'augmentation du débit cardiaque du fœtus (31).



**Figure 9** - Algorithme décisionnel en fonction des résultats de la sérologie maternelle parvovirus B19 chez la femme enceinte inspiré de C.Brochot et al. (29)

## B. Chez le fœtus

Compte-tenu de la gravité des potentielles conséquences d'une infection fœtale par le parvovirus B19, un dépistage prénatal peut être recommandé en cas de suspicion d'infection fœtale.

Un prélèvement fœtal est un acte délicat qui doit être réalisé dans un centre spécialisé en médecine fœtale.

À partir de 15 semaines d'aménorrhées, il est possible de prélever du liquide amniotique par amniocentèse (32).

Une ponction de sang fœtal prélevé par cordocentèse peut être réalisée à partir de 18 semaines d'aménorrhées (33). Elle permet, en plus de confirmer le diagnostic d'infection virale, de mesurer le taux d'hémoglobine fœtal et donc d'évaluer la sévérité de l'anémie chez le fœtus.

À partir de ces deux types de prélèvements, le diagnostic foetal peut être confirmé par sérologie (diagnostic indirect) ou par PCR (diagnostic direct).

Cependant, ces deux techniques sont invasives et associées à un risque de complications graves telles que :

- Une fausse couche (0,5 à 1% des amniocentèses),
- Une infection du liquide amniotique,
- Une hémorragie foetale,
- Un accouchement prématurée par rupture des membranes,
- Un passage de sang foetal dans le système sanguin maternel à l'origine d'une sensibilisation rhésus si la mère est rhésus négative et le foetus rhésus positif (34).

Le médecin spécialisé prend soin d'évaluer chaque situation en considérant le rapport bénéfice-risque dont doit être informée la patiente avant de procéder à l'intervention. En raison du risque de complications graves, ces techniques invasives ne sont pas systématiquement réalisées en cas d'infection maternelle par le parvovirus B19, mais sont réservées à certaines indications spécifiques (en cas de signes de souffrance foetale à l'échographie).

*a) Place de la sérologie dans le dépistage d'infection foetale par le parvovirus B19*

La sérologie foetale n'est pas recommandée dans le cadre du dépistage d'infection foetale par le parvovirus B19. En effet, les IgG maternelles passent la barrière foeto-placentaire et se confondent avec celles du foetus : la présence d'IgG anti-parvovirus B19 dans un sérum foetal ne permet donc pas de conclure à une exposition foetale par le virus. La présence d'IgM anti-parvovirus B19 dans le sang foetal est en faveur d'une infection foetale récente puisque ce type d'anticorps n'est pas capable de traverser la barrière foeto-placentaire. Cependant, les IgM ne sont produites qu'à partir de 22 semaines d'aménorrhées au niveau du foie foetal. Du fait de l'immaturation du système immunitaire chez le foetus, l'absence d'IgM ne permet pas d'exclure une infection récente (18). Le risque élevé de faux négatif justifie que la sérologie foetale ne soit pas une méthode de choix dans la démarche de dépistage de l'infection.

*b) Place de la PCR dans le dépistage d'infection fœtale par le parvovirus B19*

Le diagnostic de l'infection fœtale peut être confirmé à partir du liquide amniotique ou du sérum fœtal en utilisant des méthodes de biologie moléculaire telles que la PCR afin de mettre en évidence l'ADN du parvovirus B19 dans l'échantillon. Il s'agit de la méthode de référence pour le diagnostic d'infection fœtale par le parvovirus B19.

C. Chez l'immunodéprimé

Les résultats des tests sérologiques doivent toujours être interprétés en fonction du statut immunitaire du patient. Chez les individus immunodéprimés, l'affaiblissement du système immunitaire peut altérer la production d'anticorps, rendant les IgM anti-parvovirus B19 plus difficiles à détecter et pouvant entraîner des résultats faussement négatifs. Dans ce cas, il est préférable de réaliser un diagnostic direct par PCR parvovirus B19 pour détecter une infection en cours dans cette population.

12. Traitements

Aucun traitement antiviral ni vaccin spécifique contre l'infection au parvovirus B19 n'est disponible actuellement. La stratégie thérapeutique mise en œuvre consiste à réduire les symptômes associés à l'infection.

A. Chez la femme enceinte

*a) Abstention thérapeutique*

En absence de symptômes cliniques et de manifestations biologiques, l'infection par le parvovirus B19 ne nécessite pas de traitement, car elle est généralement spontanément résolutive.

### *b) Traitement des signes généraux*

Des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) peuvent être prescrits pour soulager les signes généraux tel que le syndrome pseudo-grippal, ainsi que les manifestations articulaires et cutanées.

### *c) Transfusion de culot globulaire*

La transfusion de culot globulaire peut être utilisée pour corriger le taux d'hémoglobine en cas d'anémie (22).

## B. Chez le fœtus

### *a) Abstention thérapeutique*

Si le fœtus est actif à l'échographie et que son développement est normal, ou si les signes cliniques (comme l'anasarque foeto-placentaire) ou biologiques (comme l'anémie) sont minimales ou en régression, il n'est pas nécessaire de mettre en place un traitement. La surveillance échographique sera maintenue pendant douze semaines et la stratégie thérapeutique pourra évoluer en fonction des résultats observés (29).

### *b) Transfusion sanguine intravasculaire in utero*

En cas d'anémie sévère, il est recommandé de réaliser une ou plusieurs transfusions de culot globulaire intra-utérine afin de corriger le taux d'hémoglobine fœtale et réduire le risque d'anasarque foeto-placentaire. Bien que cette technique soit efficace, elle est invasive et comporte des risques pour le fœtus. Plus l'intervention est précoce au cours de la grossesse et plus le risque de complication est élevé. Les complications possibles sont de gravité variable et incluent notamment une mort fœtale in utero, une rupture prématurée des membranes, une chorioamniotite (35).

La thérapie par injection intra-utérine d'immunoglobulines riches en IgG anti-parvovirus B19 par voie intraveineuse a également été décrite comme un traitement efficace de l'anasarque fœtal (36).

L'efficacité thérapeutique est évaluée à l'échographie par la régression progressive des signes d'anasarque et la diminution de la vitesse du pic systolique de l'artère cérébrale moyenne.

### C. Chez l'immunodéprimé

En raison de la prévalence élevée de l'infection à parvovirus B19 dans la population générale, les perfusions d'immunoglobulines polyvalentes constituent une source importante d'anticorps dirigés contre le virus. L'efficacité de leur injection répétée en intraveineuse a été démontrée dans le traitement de l'infection à parvovirus B19 chez l'immunodéprimé, permettant de remédier aux défauts du système immunitaire (8).

### D. Chez le patient atteint d'anémie hémolytique chronique (thalassémie, drépanocytose)

Afin de corriger l'anémie aiguë arégénérative causée par l'infection par le parvovirus B19, le traitement repose sur la transfusion de culots globulaires.

## 13. Prévention de la transmission

Compte tenu du risque de morbidité et mortalité en cas de transmission de l'infection dans les populations à risque, des mesures préventives ont été instaurées pour réduire le risque de primo-infection. La sensibilisation des professionnels de santé et l'information des mesures préventives aux populations vulnérables sont des points clés de la prévention de la transmission du parvovirus B19.

Chez la femme enceinte, le dépistage par sérologie maternelle en cours de grossesse n'est pas systématique en absence d'arguments en faveur d'une infection en cours (symptômes, signes échographiques ou notion de cas contact). Sa mise en place représenterait un coût important pour le système de santé.

Afin d'éviter la transmission de l'infection par le parvovirus B19, il est recommandé de respecter les règles d'hygiène suivantes :

- Le lavage régulier des mains,
- Éviter le contact avec la salive des enfants en bas âge (notamment en évitant le partage des couverts),
- Éviter le contact avec une personne atteinte ou suspectée d'être atteinte par le parvovirus B19, ou porter un masque en cas de contact (19).

Le parvovirus B19, en raison de sa résistance dans le milieu extérieur, peut échapper aux procédés physico-chimiques assurant la sécurisation de l'utilisation de produits sanguins labiles (concentrés de globules rouges, de plaquettes ou plasma frais congelés).

Depuis le 1<sup>er</sup> janvier 2005, la réglementation européenne impose la recherche du génome du parvovirus B19 dans les pools de plasma afin de prévenir sa transmission. Le seuil maximal d'ADN de parvovirus B19 acceptable dans un pool de plasma est de  $10^4$  UI/ml (37). D'après Santé Publique France, le risque de contamination d'un don par le parvovirus B19 à un taux supérieur à  $10^4$  UI/ml est très faible et représenterait 12 dons virémiques pour 100 000 dons, et jusqu'à 23 dons virémiques pour 100 000 dons en période épidémique.

## II. La qualité au laboratoire

### 1. Généralités

Depuis la publication en 1994 du Guide de Bonne Exécution des Analyses (GBEA) par arrêté ministériel, les laboratoires de biologie médicale sont entrés dans une démarche qualité.

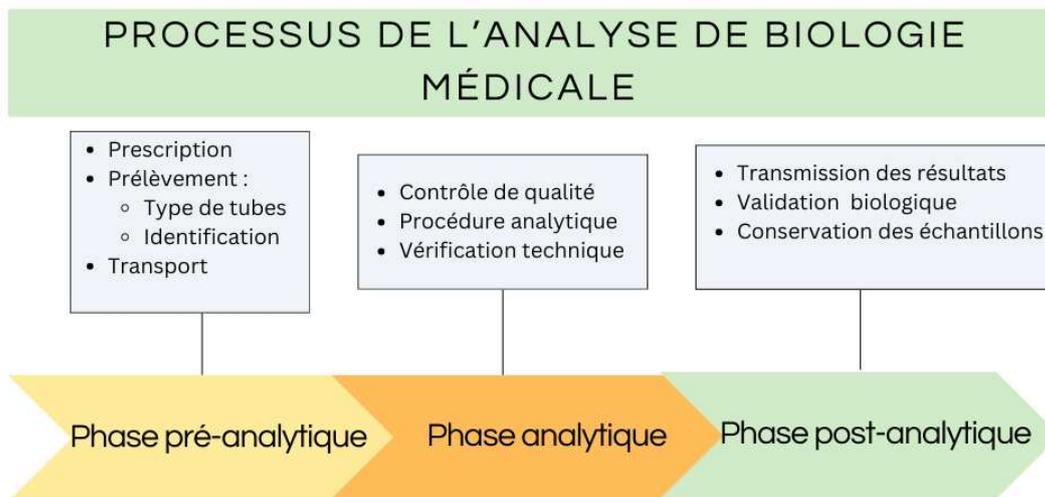
Le grand nombre d'étapes et d'opérateurs au sein du laboratoire rend le système complexe. En effet, une erreur à l'origine de résultats erronés peut engendrer des conséquences néfastes :

- pour le patient : perte de chance (retard dans l'établissement d'un diagnostic correct, traitements inutiles ou inappropriés).
- pour le laboratoire : perte de temps, surcoût.

Dans le but de minimiser le risque d'erreurs et parvenir au plus haut niveau d'exactitude et de fiabilité des résultats, tous les processus et les procédures doivent être réalisés correctement par l'ensemble des intervenants. Par conséquent, un modèle de système de gestion de la qualité a été établi par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) afin d'assurer un bon fonctionnement du laboratoire (38). Il permet l'homogénéisation des pratiques et garantit ainsi au patient des résultats comparables d'un établissement à un autre.

Le système de management de la qualité désigne les actions coordonnées qui permettent d'orienter et de contrôler les activités du laboratoire en matière de qualité. Il s'appuie sur la norme NF EN ISO 15189 qui définit les exigences concernant la qualité au laboratoire (39). Il s'intéresse à l'organisation du laboratoire, aux procédures, aux processus et aux moyens nécessaires pour mettre en œuvre le management de la qualité.

Toutes les étapes dans le processus de l'examen de biologie médicale sont étudiées, du pré-analytique au post-analytique (**Figure 10**).



**Figure 10** - Processus de l'analyse de biologie médicale

Le système de qualité du laboratoire de biologie médicale est évalué de manière régulière, par des audits. En France, l'ensemble des activités réalisées au sein des laboratoires de biologie médicale est soumis à l'accréditation.

## 2. Accréditation

L'accréditation est une procédure par laquelle un organisme indépendant reconnaît de manière objective et impartiale les compétences d'un laboratoire, en s'appuyant sur des normes internationales de type ISO (International Organization for Standardization).

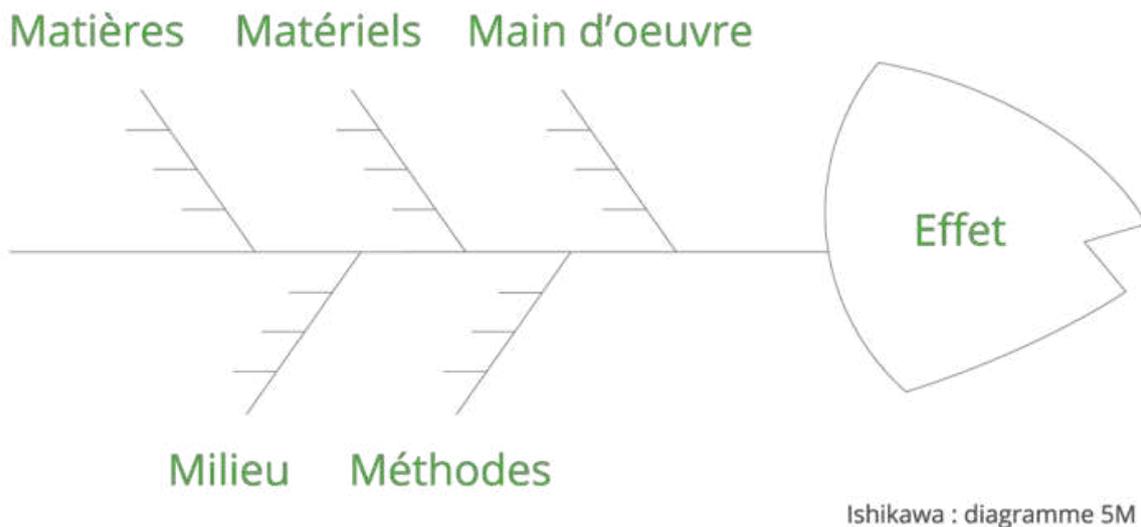
Créé en 1994, le COFRAC (Comité français d'accréditation) est une association à but non lucratif, mise en place par les pouvoirs publics. C'est la seule instance capable de délivrer une accréditation en France.

Afin d'assurer la démarche qualité, le laboratoire s'appuie sur deux grands principes de management de la qualité :

## A. Le diagramme des 5M ou diagramme causes-effets d'Ishikawa (Figure11)

Inventé par Kaoru Ishikawa en 1962, il s'agit d'un outil d'aide à l'identification de la cause d'un problème. Ce diagramme représente un inventaire des causes possibles d'un dysfonctionnement en les classant en cinq catégories (40) :

- Matières :
  - Prélèvements (qualité, quantité, stockage),
  - Consommables (contrôles, réactifs, calibrants),
  - Renseignements cliniques
  
- Main-d'œuvre :
  - Personnel : gestion de la formation (habilitation) et des compétences (formation continue), organisation du poste
  
- Matériel :
  - Automates,
  - Équipements (pipettes, centrifugeuses),
  - Logiciels informatiques,
  - Contrôles internes et externes
  
- Méthodes :
  - Procédures,
  - Système analytique
  
- Milieu :
  - Environnement : organisation des locaux (température, hygrométrie)



**Figure 11** - Représentation du diagramme des 5M d'Ishikawa « en arêtes de poisson » (41)

Ce diagramme peut être appliqué aussi bien à des fins correctives (analyse des causes) que préventives (analyse des risques).

B. Le principe d'amélioration de la roue de Deming ou PDCA (Plan Do Check Act)

Créée par W.A. Shewhart, la roue PDCA a été rendue populaire par Edwards Deming en 1950. Ce cycle comprend quatre étapes (**Figure 12**) :

- Prévoir (Plan) : lister les objectifs et établir un planning de réalisation des tâches,
- Faire (Do) : mettre en œuvre les actions,
- Vérifier (Check) : contrôler par un audit du poste,
- Réagir (Act) : établir un plan d'actions correctives (42).

L'application de ce principe contribue à l'amélioration continue du système qualité au laboratoire.

## La roue de Deming

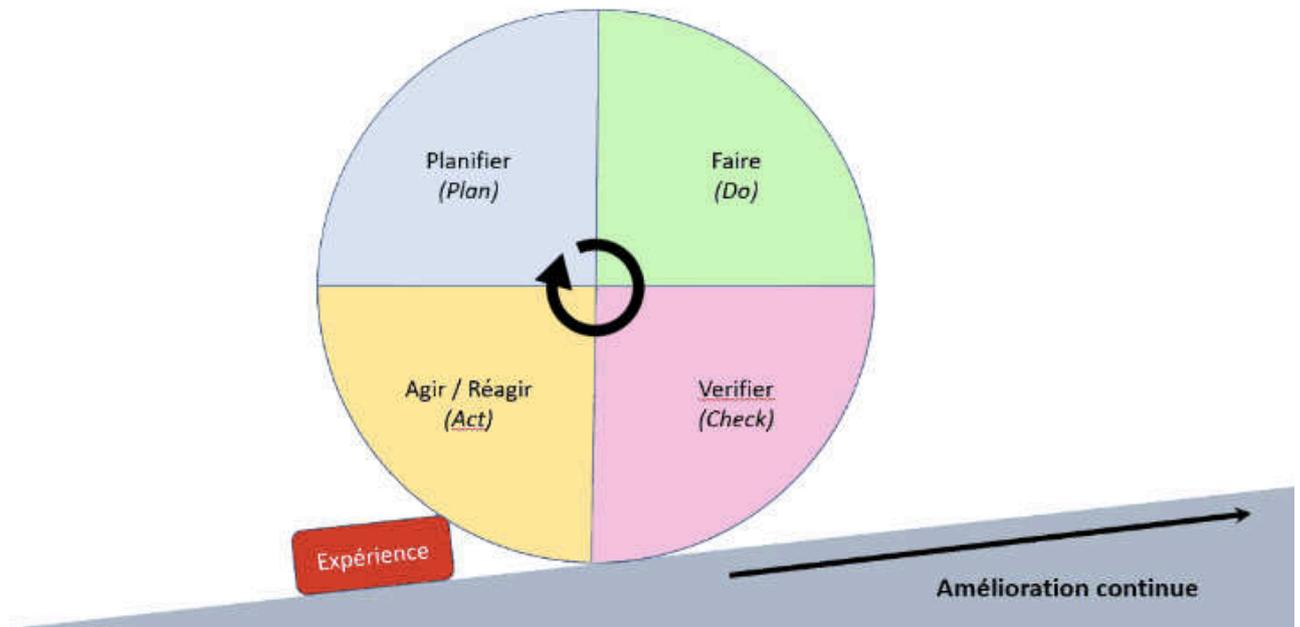


Figure 12 - Représentation graphique de la roue de Deming (43)

### 3. Le dossier de vérification de méthode

Le dossier de vérification de méthode permet de valider la mise en application d'une analyse dans le laboratoire. Il sert à démontrer que la méthode fonctionne correctement dans les conditions opératoires du laboratoire et qu'elle est ainsi applicable en pratique courante. On distingue deux types de dossiers de vérification de méthode :

- La portée flexible standard « de type A » pour les méthodes reconnues. Il s'agit d'une vérification des performances du système analytique lors de la mise en application dans le laboratoire. L'adoption d'une méthode fournisseur correspond à une portée « de type A ».
- La portée flexible étendue « de type B » pour les méthodes adaptées ou développées en interne (44).

Afin d'évaluer la performance de la méthode, il convient de réaliser une vérification expérimentale par le biais de l'évaluation de plusieurs paramètres dont la liste est répertoriée dans le document SH-GTA-04 :

- La répétabilité : analyse d'un même échantillon dans des conditions standardisées (même opérateur, même lot de réactifs, même instrument, même étalonnage) dans un délai le plus court possible.
- La fidélité intermédiaire ou reproductibilité : analyse d'un même échantillon dans des conditions différentes en faisant varier au moins un des facteurs (l'opérateur, le temps, les lots de réactifs, les étalonnages...).
- La variabilité inter-opérateurs : analyse d'un même échantillon par des opérateurs différents.
- La justesse : étroitesse de l'accord entre la moyenne et une valeur de référence (ou valeur vraie).
- L'exactitude : étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et la valeur vraie.
- La sensibilité analytique : probabilité qu'un dispositif donne un résultat positif en présence du marqueur cible.
- La spécificité analytique : probabilité qu'un dispositif donne un résultat négatif en absence du marqueur cible.
- L'incertitude de mesure : appréciation de la dispersion des valeurs.
- La comparaison de méthodes : comparaison de la nouvelle méthode avec une méthode de référence ou une méthode déjà utilisée au laboratoire.
- Les interférences : facteurs endogènes ou exogènes pouvant perturber la précision des résultats d'un test (lipémie, hémoglobine plasmatique, bilirubine, médicaments).
- La contamination : évaluation de l'influence d'un échantillon à concentration élevée sur les autres échantillons.

- La robustesse et stabilité des réactifs : la robustesse d'une méthode d'analyse est une mesure de sa capacité à ne pas être affectée par des variations faibles, mais délibérées, des paramètres de la méthode (pH, température, etc.).
  
- L'intervalle de référence : il définit les valeurs seuils.

Les résultats de l'ensemble des tests seront intégrés dans le dossier de vérification de méthode. Le document SH-FORM-43 (45) est accessible sur le site internet du Cofrac pour guider la rédaction du dossier. Le dossier de vérification de méthode comprend :

1. La description de la méthode
2. L'évaluation des critères de performances
3. Le choix des limites d'acceptabilités de la méthode (limite de détection)
4. La vérification bibliographique de la méthode
5. La réalisation des tests
6. La compilation et le traitement statistique des données obtenues
7. La conclusion et décision quant à la validation opérationnelle de la technique : déclaration d'aptitude.

#### 4. Problématique

Le laboratoire de l'hôpital Saint Philibert a été soumis au changement de réactifs du fournisseur Diasorin pour la réalisation de sérologie parvovirus B19 (IgM et IgG). Dans le cadre de la démarche qualité, il convient de réaliser un dossier de vérification de méthode pour toute modification dans le protocole d'analyse d'une activité accréditée.

Ce travail a pour objectif de mener à bien la réalisation de toutes les étapes du dossier de vérification de méthode, permettant la mise en place des nouvelles références de réactifs au laboratoire.

Une étude d'interférence a également été menée pour évaluer l'impact du délai d'analyse après la décongélation.

### III. Matériel et Méthode

#### 1. Matériel



**Figure 13** - Automate Liaison XL (Diasorin) (46)

L'automate utilisé est le Liaison XL (**Figure 13**), commercialisé par la société Diasorin. Entièrement automatisé, cet automate effectue un dosage par chimiluminescence des anticorps anti-parvovirus B19 de type IgM et IgG. Il réalise un traitement complet de l'échantillon (pré-dilution de l'échantillon, distribution des échantillons et des réactifs, incubation, processus de lavage etc.).

Les nouvelles références de réactifs Diasorin Liaison parvovirus B19 IgG Plus et IgM Plus ont été testées. Les recommandations du fournisseur ont été respectées :

- Prétraitement de l'échantillon : centrifugation pendant 15 minutes à 2000 g.
- Choix du type de tube : utilisation de tubes secs avec gel séparateur (analyse quantitative réalisée sur sérum).
- Calibration : les calibrants utilisés sont ceux fournis par le fournisseur et permettent l'étalonnage de la technique d'analyse.
- Passage de contrôles internes : chaque série analytique est encadrée par le passage de contrôles de qualité interne, à plusieurs niveaux dont les concentrations sont connues et suivies selon un graphique de Levey-Jennings.

## 2. Principe de la méthode

Le principe de la méthode est identique pour le dosage des IgG et IgM.

Il s'agit d'un dosage immunologique indirect par chimiluminescence (CLIA) de type ELISA sandwich indirect (**Figure 14**).

Un antigène VP2 recombinant du parvovirus B19 est utilisé pour revêtir des particules magnétiques, formant ainsi la phase solide.

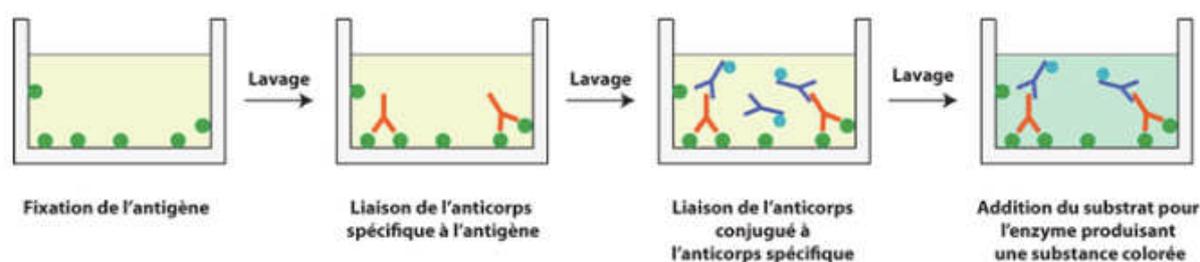
Pendant la première incubation, les anticorps anti-parvovirus B19, s'ils sont présents dans les étalons, les échantillons ou les contrôles, se lient à l'antigène VP2 recombinant qui compose la phase solide.

Pendant la seconde incubation, un anticorps monoclonal de souris dirigé contre les immunoglobulines humaines est ajouté. Il est lié à un dérivé de l'isoluminol et forme un conjugué anticorps-isoluminol. L'anticorps conjugué réagit avec les immunoglobulines humaines anti-parvovirus B19 déjà liées à la phase solide.

Après chaque incubation, le matériel non lié est éliminé par un cycle de lavage.

Ensuite, les réactifs Starter sont ajoutés ce qui déclenche une réaction instantanée de chimiluminescence.

Le signal lumineux, et par conséquent la quantité de conjugué anticorps-isoluminol, est mesuré par un photomultiplicateur en unités relatives de luminescence (RLU). Ce signal indique la concentration d'immunoglobulines anti-VP2 présente dans les étalons, les échantillons ou les contrôles.



**Figure 14** – Principe de la méthode ELISA sandwich indirect adapté de BiOutils (47)

### 3. Limites de quantification, étendues de mesure et interprétation des dosages d'IgM et IgG anti-parvovirus B19

Les tableaux suivants résument les limites de quantification et les étendues de mesure pour le dosage des IgM et IgG anti-parvovirus B19 avec le nouveau réactif, ainsi que les seuils définis par le fournisseur.

**Tableau I - Limites de quantifications et étendues de mesure pour le dosage des IgM et IgG anti-parvovirus B19**

	<b>IgM</b>	<b>IgG</b>
<b>Limite de quantification</b>	0,10	0,10
<b>Limite supérieure de linéarité</b>	48	150

**Tableau II - Interprétation des dosages d'IgM et d'IgG anti-parvovirus B19**

	<b>IgM</b>	<b>IgG</b>
<b>Négatif</b>	$x < 0,90$	$x < 2,00$
<b>Douteux</b>	$0,90 \leq x \leq 1,09$	$2,00 \leq x \leq 2,49$
<b>Positif</b>	$x \geq 1,10$	$x \geq 2,50$

### 4. Échantillons

Afin de mettre en œuvre nos expérimentations de vérification de méthode, nous avons utilisés plusieurs types d'échantillons :

- Des sérums de patients conservés dans notre sérothèque à -20°C,
- Des échantillons de contrôle qualité interne (CQI) commercialisés par la société Diasorin,
- Des échantillons de contrôle qualité externe (EEQ – Évaluation Externe de la Qualité) commercialisés par la société CTCB (Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique).

## 5. Description des outils statistiques

Les tests à réaliser dans le cadre du dossier de vérification de méthode imposent une analyse statistique des résultats.

Les outils statistiques utilisés sont les suivants :

- La moyenne : somme des données divisée par leur nombre,
- L'écart type : mesure de la dispersion des valeurs,
- Le coefficient de variation (CV) : rapport de l'écart type sur la moyenne. Il traduit la dispersion autour de la moyenne et est exprimé en pourcentage,
- Le « z-score » noté  $|z|$  : cette expression en nombre d'écart-type indique l'écart entre le résultat du laboratoire et la moyenne du groupe de comparaison. Le z-score représente la mesure normalisée du biais du laboratoire, calculée à partir de la valeur assignée et de l'écart-type pour l'évaluation de l'aptitude,
- Le coefficient Kappa de Cohen noté  $K$  : c'est une mesure statistique utilisée pour évaluer le degré de concordance entre deux évaluateurs ou deux séries d'évaluations pour une variable. Plus précisément, il évalue la proportion de l'accord observé par rapport à l'accord qui pourrait être dû au hasard.

## IV. Résultats

L'exploitation statistique d'un résultat rendu inférieur au domaine de mesure (inférieur à 0,10) n'a pas été possible. L'analyse a de ce fait été effectuée en utilisant les Unités Lumineuses Relatives (RLU).

Pour les tests de répétabilité et de reproductibilité, l'analyse est considérée conforme si le coefficient de variation obtenu est inférieur au coefficient de variation limite préalablement choisi.

### 1. Étude de la répétabilité

Pour évaluer la répétabilité du test avec le nouveau kit de réactifs, deux échantillons provenant de la sérothèque ont été sélectionnés pour chaque paramètre :

- Un échantillon « niveau bas » dont la concentration en anticorps anti-parvovirus B19 est faible, identifié comme « Patient 1 ».
- Un échantillon « niveau haut » dont la concentration en anticorps anti-parvovirus B19 est forte, identifié comme « Patient 2 ».

Pour chaque échantillon, la mesure du titre en anticorps anti-parvovirus B19 (IgM et IgG) a été répétée 20 fois dans les mêmes conditions : même jour, même opérateur, même lot de réactif et sur un délai le plus court possible. La programmation des 20 dosages a été directement faite sur l'automate. La moyenne, l'écart-type et le coefficient de variation ont été calculés.

#### ❖ Test de répétabilité pour les IgM anti-parvovirus B19

**Tableau III - Résultats des tests de répétabilité pour les IgM anti-parvovirus B19**

Échantillons	Nombre (N)	Moyenne	Écart-type	CV (%)	CV fournisseur (%)	CV limite (hors fournisseur) (%)	Conclusion
Patient 1	20	0,41	0,035	8,5	15	8,52	CONFORME
Patient 2	20	2,87	0,23	7,9	15	8,52	CONFORME

❖ Test de répétabilité pour les IgG anti-parvovirus B19

**Tableau IV - Résultats des tests de répétabilité pour les IgG anti-parvovirus B19**

Échantillons	Nombre (N)	Moyenne	Écart-type	CV (%)	CV fournisseur (%)	CV limite hors fournisseur (%)	Conclusion
Patient 1	20	<0,10 <i>RLU :</i> 805,4	NA <i>RLU :</i> 27,7	NA <i>RLU :</i> 3,43	15	7,50	CONFORME
Patient 2	20	17,9	0,052	2,89	15	7,50	CONFORME

\*NA : Non applicable

Les coefficients de variation (CV) étant inférieurs à 15 % (CV fournisseur, Annexe 1), le test est conforme aux spécifications du fournisseur. Ils sont également inférieurs aux CV limites choisis (respectivement 8,52 % et 7,50 % pour les IgM et les IgG). Le test est donc conforme aux exigences du laboratoire.

## 2. Fidélité intermédiaire

Pour évaluer la reproductibilité du test, deux échantillons de contrôle qualité interne (un niveau haut et un niveau bas) ont été analysés 20 fois par l'automate, dans des conditions différentes : jours différents et opérateurs différents. Au quotidien, cette gestion des CQI est automatisée à la fois par l'automate et le logiciel de gestion des CQI commercialisé par la société Biorad : URT.

❖ Test de fidélité intermédiaire pour les IgM anti-Parvovirus B19

**Tableau V - Résultats des tests de fidélité intermédiaire pour les IgM anti-parvovirus B19**

Échantillons	Nombre (N)	Moyenne	Écart-type	CV (%)	CV fournisseur (%)	CV limite (hors fournisseur) (%)	Conclusion
Niveau 1 (CQI bas)	20	<0,10 <i>RLU : 707,8</i>	NA* <i>RLU : 123,8</i>	NA <i>RLU : 17,49</i>	15	100	CONFORME
Niveau 2 (CQI haut)	20	3,31	0,169	4,68	15	10	CONFORME

\*NA : Non applicable

❖ Test de fidélité intermédiaire pour les IgG anti-Parvovirus B19

**Tableau VI - Résultats des tests de fidélité intermédiaire pour les IgG anti-parvovirus B19**

Échantillons	Nombre (N)	Moyenne	Écart-type	CV (%)	CV fournisseur (%)	CV limite (hors fournisseur) (%)	Conclusion
Niveau 1 (CQI bas)	20	<0,10 <i>RLU : 566,35</i>	NA* <i>RLU : 32,5</i>	NA <i>RLU : 5,73</i>	15	100	CONFORME
Niveau 2 (CQI haut)	20	4,85	0,37	7,69	15	10	CONFORME

\*NA : Non applicable

Les CV définis par le fournisseur sont fixés à 15 %. Les CV limites choisis arbitrairement par le laboratoire sont 100 % et 10 % respectivement pour les niveaux bas et haut. Que ce soit pour l'analyse des IgM ou des IgG, les CV obtenus pour les deux niveaux sont inférieurs à ceux fixés en amont du test. Le test est donc conforme aux exigences du laboratoire et l'analyse est reproductible.

### 3. Étude de l'exactitude

L'exactitude désigne l'étroitesse de l'accord entre une valeur mesurée et la valeur vraie d'un mesurande. L'évaluation de l'exactitude d'un test se fait à partir des résultats des Évaluations Externes de Qualité (EEQ).

La participation aux EEQ est une obligation légale pour les laboratoires. Après réalisation d'un seul dosage en aveugle sur un échantillon inconnu, les résultats obtenus sont envoyés à l'organisme correspondant puis nous sont rendus après comparaison inter-laboratoires. La moyenne, l'écart type, le CV et le biais obtenus par le groupe de pairs sont calculés. Le biais limite, exprimé en pourcentage, est préalablement fixé par la formule suivante :

$$\text{biais limite (\%)} = 2 \times \frac{\text{écart - type}}{\text{cible}} \times 100$$

À partir de la valeur que nous avons obtenue au laboratoire, le z-score «  $|z|$  » est calculé. Il représente, en nombre d'écart-types, l'écart entre le résultat du laboratoire et la moyenne du groupe de pairs. Il traduit l'inexactitude ou le biais, et permet de conclure à la conformité ou non de l'analyse.

- $|z| \leq 2$  : Les performances du test sont satisfaisantes, le test est conforme.
- $2 < |z| < 3$  : Les performances du test sont discutables.
- $|z| \geq 3$  : Les performances du test ne sont pas satisfaisantes, le test n'est pas conforme (48).

Plus la valeur absolue du z-score est élevée, plus l'inexactitude des résultats obtenus est importante.

Dans le cadre de l'étude de l'exactitude des sérologies parvovirus B19 au laboratoire de l'hôpital St Philibert, deux échantillons d'évaluation externe de qualité (EEQ) ont été utilisés : un niveau bas et un niveau haut, respectivement pour l'analyse des IgM et des IgG anti-parvovirus B19. Les EEQ sont qualitatifs pour les valeurs négatives et quantitatifs pour les valeurs positives.

❖ Test de l'exactitude pour les IgM anti-parvovirus B19

**Tableau VII - Résultats des tests d'exactitude pour les IgM anti-parvovirus B19**

Échantillon CTCT	Nombre (N)	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Écart-type (groupe de pairs)	CV groupe de pairs (%)	Biais / groupe de pairs (%)	Biais limite (%)	Z-score	Note	Conclusion
2023 232	67	<0,10	Négatif	ND*	ND	ND	ND	ND	A	CONFORME
2023 233	23	12,2	13,8	1,14	8,26	-11,59	16,54	-1,40	A	CONFORME

\*ND : Non déterminé par l'organisme évaluateur

❖ Test de l'exactitude pour les IgG anti-parvovirus B19

**Tableau VIII - Résultats des tests d'exactitude pour les IgG anti-parvovirus B19**

Échantillon CTCT	Nombre (N)	Valeur Labo	Cible (groupe de pairs)	Écart-type (groupe de pairs)	CV groupe de pairs (%)	Biais / groupe de pairs (%)	Biais limite (%)	Z-score	Note	Conclusion
2023 232	67	<0,10	Négatif	ND*	ND	ND	ND	ND	A	CONFORME
2023 233	21	8,07	7,53	0,76	10,08	7,17	20,19	0,71	A	CONFORME

\*ND : Non déterminé par l'organisme évaluateur

Que ce soit pour le dosage des IgM ou des IgG anti-parvovirus B19, les résultats obtenus pour les niveaux bas (négatifs) sont concordants avec ceux du groupe de pairs. Il s'agit d'un résultat qualitatif pour lequel le calcul du z-score n'est pas applicable. Le fournisseur des EEQ nous a attribué la note la plus haute (A), le test est donc conforme aux exigences du laboratoire.

Pour les niveaux hauts, le z-score calculé est compris entre -2 et +2 que ce soit pour le dosage des IgM ou des IgG anti-parvovirus B19. Le fournisseur des EEQ nous a attribué la note A, le test est donc conforme.

#### 4. Comparaison de méthodes

Chaque sérum a été testé en double à la fois avec l'ancienne et la nouvelle référence de réactif, permettant une comparaison des résultats.

D'après Cohen *et al.* (49) et le SH-GTA-04 (version1, page 185) (50), l'accord entre deux méthodes (variant de mauvais à excellent) est défini par la valeur du coefficient de concordance Kappa noté K.

Tableau IX - Accord entre 2 méthodes évaluées en fonction du coefficient de Kappa de Cohen K						
Accord entre 2 méthodes						
	Mauvais	Négligeable	Faible	Moyen	Satisfaisant	Excellent
K	$K < 0$	$0 < K \leq 0,20$	$0,21 \leq K \leq 0,40$	$0,41 \leq K \leq 0,60$	$0,61 \leq K \leq 0,80$	$0,81 \leq K \leq 1$

#### ❖ Résultats du dosage des IgM anti-parvovirus B19

20 sérums de patients provenant de la sérothèque ont été analysés en double pour l'analyse des IgM anti-parvovirus B19.

Tableau X - Résultats de la comparaison de méthode pour les IgM anti-parvovirus B19					
		Ancienne référence			
		Négatif (<0,90)	Douteux (0,90-1,10)	Positif (≥1,10)	Total
Nouvelle référence	Négatif (<0,90)	10	1	0	11
	Douteux (0,90-1,10)	0	0	0	
	Positif (≥1,10)	0	0	9	9
	Total	10	1	9	20

Sur les 20 sérums testés, les deux méthodes donnent des résultats identiques pour 19 sérums. On remarque qu'un sérum rendu douteux avec l'ancienne référence de réactif est négatif avec la nouvelle référence.

Le calcul du coefficient de concordance Kappa donne  $\kappa = 0,904$ , correspondant à un accord excellent entre les deux méthodes. Les résultats sont donc satisfaisants et conformes aux exigences du laboratoire.

❖ Résultats du dosage des IgG anti-parvovirus B19

<b>Tableau XI - Résultats de la comparaison de méthode pour les IgG anti-parvovirus B19</b>					
		<b>Ancienne référence</b>			
		Négatif (< 2)	Douteux (2 - 2,5)	Positif ( $\geq 2,5$ )	Total
<b>Nouvelle référence</b>	Négatif (< 2)	2	0	0	2
	Douteux (2 - 2,5)	0	0	0	0
	Positif ( $\geq 2,5$ )	0	0	16	16
	Total	2	0	16	18

Pour le dosage des IgG anti-parvovirus B19, 18 sérums ont été testés. L'analyse donne des résultats identiques avec les deux méthodes. L'ensemble des résultats est concordant.

Le calcul du coefficient de Kappa donne  $\kappa = 1$ . L'accord entre les deux méthodes est excellent et le test est considéré comme conforme.

5. Étude des interférences

Dans un dossier de vérification de méthode de portée A, une étude des interférences doit être réalisée si le biologiste l'estime nécessaire.

Les interférences en sérologie peuvent entraîner un résultat erroné ce qui justifie leur étude. Il est donc important de définir une limite au-delà de laquelle le résultat ne doit pas être rendu.

Les paramètres les plus souvent à l'origine d'interférences en sérologie sont : l'hémolyse (présence d'hémoglobine), l'ictère (reflet du taux de bilirubine), la lipémie (taux de triglycérides) ainsi que certains médicaments (exemple : les immunoglobulines polyvalentes).

#### A. Étude de l'interférence de l'hémoglobine, d'un ictère et de la lipémie

D'après la fiche technique pour les sérologies parvovirus B19, il n'y a pas d'interférence sur le titre en anticorps (IgM et IgG anti-parvovirus B19) jusqu'à :

- 10 g/L d'hémoglobine,
- 15 g/L de triglycérides,
- 400 mg/L de bilirubine.

Afin de vérifier les données du fournisseur, nous avons analysé deux sérums provenant de la sérothèque (un positif en IgM et un positif en IgG anti-parvovirus B19), dans lesquels une concentration croissante en hémoglobine a été ajoutée, pour mimer une hémolyse et en évaluer son éventuel impact.

À partir d'une solution mère de globules rouges, une hémolyse a été provoquée par congélation, ajout d'eau physiologique et centrifugations répétées.

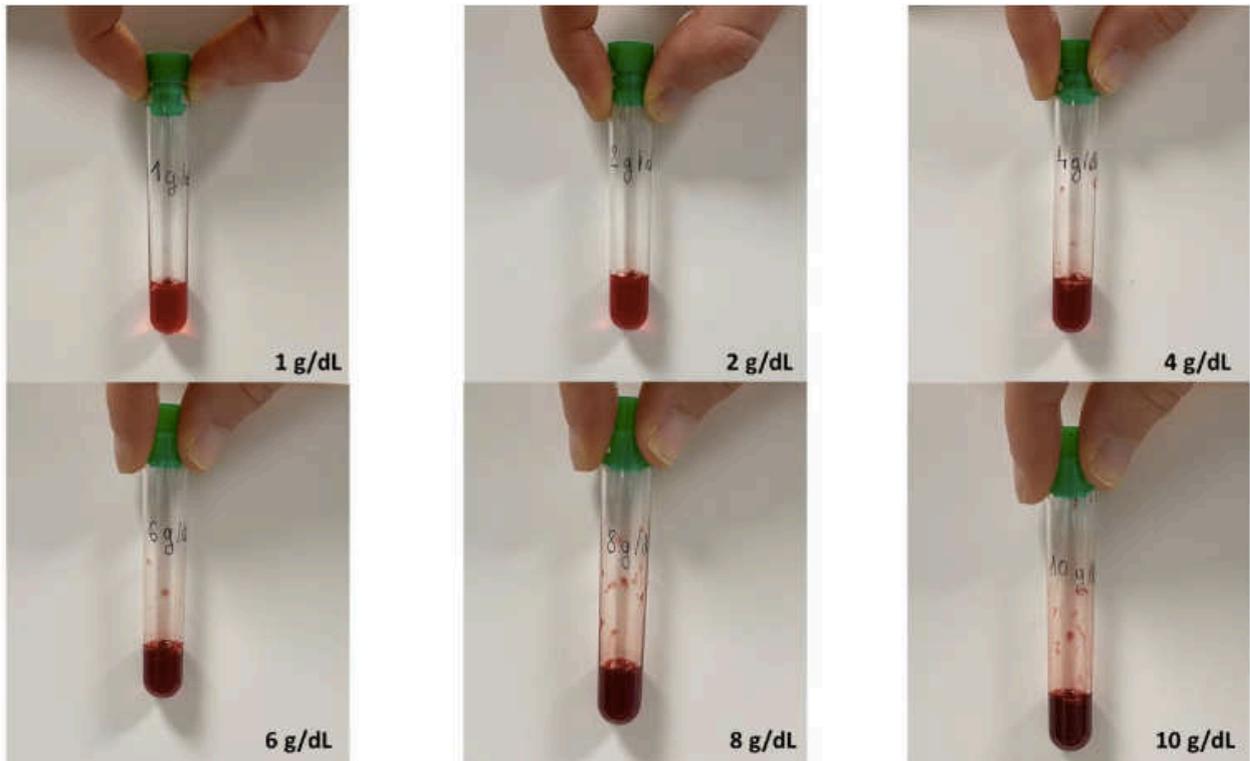
Les sérums ont été dilués avec le culot globulaire afin d'obtenir des concentrations croissantes en hémoglobine (2 g/L, 4 g/L et 8 g/L d'hémoglobine). Malgré que nous ayons obtenus des premiers résultats en accord avec les données issues de la fiche technique du fournisseur, ceux-ci n'ont pas pu être confirmés.

Pour donner une valeur ajoutée à cette étude d'interférence, nous avons créé des abaques de lecture réalisés à partir de gammes étalons pour les trois indices (HIL). Ils sont mis à la disposition des techniciens et permettent d'exclure, si nécessaire, des prélèvements dont l'interférence pourrait biaiser le résultat. En effet, l'automate Liaison XL n'est pas capable de déterminer un indice HIL (Hémolyse, Ictère, Lipémie) comme pourrait le faire un automate de biochimie. Afin de répondre à cette problématique nous avons établi des gammes visuelles pour les différents indices. Le technicien compare visuellement l'aspect du sérum du patient à ces abaques et rejette l'analyse si l'aspect correspond à une concentration pouvant causer une interférence significative.

Pour l'ictère, le seuil de bilirubine à partir duquel une interférence significative est possible est très élevé (400 mg/L). Du fait de la rareté de sérums au-delà de ce seuil, nous n'avons pas pu illustrer cette variable. Nous pouvons considérer que peu de patients seraient impactés par une éventuelle interférence de la bilirubine.

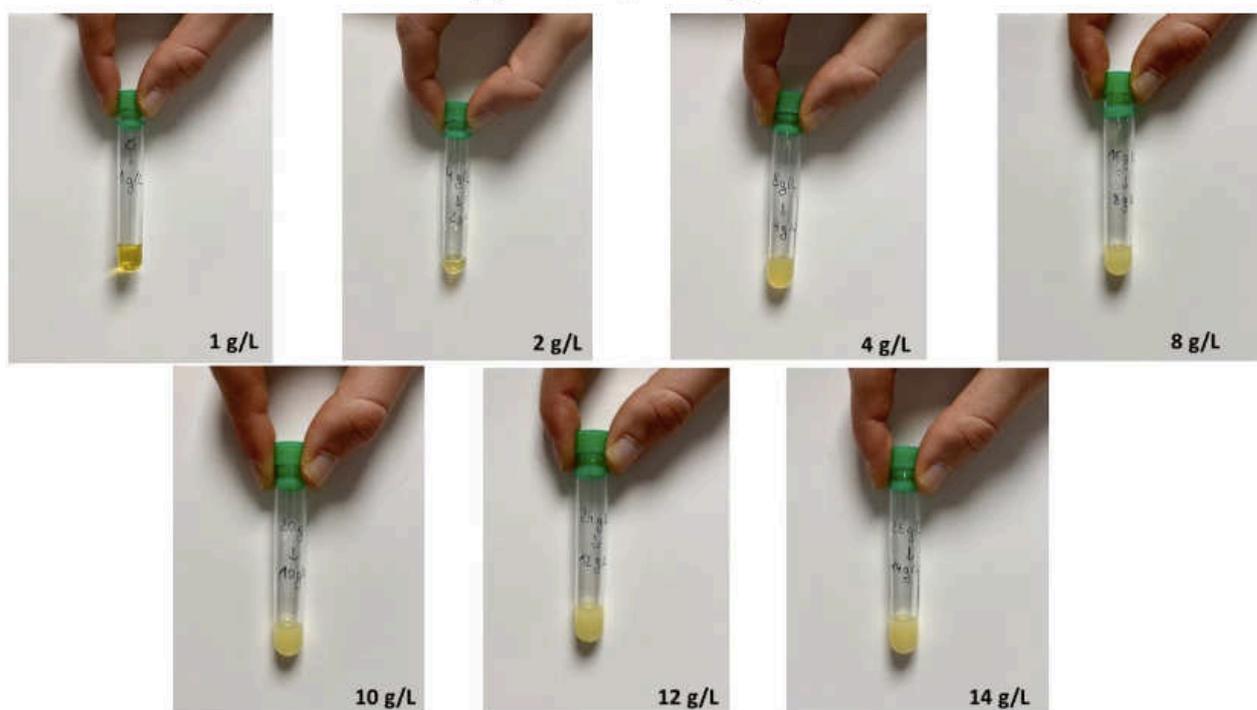
Les abaques sont présentés ci-dessous (**Figures 15 et 16**) :

Hémolyse : en g/dL d'hémoglobine



**Figure 15** - Abaque de lecture pour l'hémoglobine

### Lipémie : en g/L de triglycérides



**Figure 16** - Abaque de lecture pour la lipémie

Pour la sérologie parvovirus B19, le technicien doit considérer comme « non conforme » et rejeter le prélèvement si celui-ci présente l'aspect d'un sérum contenant plus de 10 g/L d'hémoglobine ou plus de 15 g/L de triglycérides.

### B. Étude de l'interférence de la congélation

Cette étude fait suite à une remarque de l'ingénieur d'application de la société Diasorin qui nous a signalé un certain nombre de retours de clients indiquant un potentiel problème de faux négatifs lorsque le délai après décongélation d'un prélèvement est trop court.

Afin de vérifier l'absence d'interférence du délai d'analyse après décongélation sur les titres en anticorps, les IgM et IgG anti-parvovirus B19 ont été dosés pour 30 patients dont les sérums faisaient partie de la sérothèque :

- À T1 : juste après la décongélation,
- À T2 : 2 heures après décongélation.

Nous avons arbitrairement choisi de présenter les résultats sous forme qualitative du fait de l'absence d'impact clinique d'une variation quantitative des résultats.

**Tableau XII - Résultats des sérologies IgM et IgG anti-parvovirus B19 à T1 et T2**

Échantillons	IgM T1*	IgM T2**	IgG T1	IgG T2	Concordance
1	+	+	+	+	Oui
2	+	+	+	+	Oui
3	-	-	-	-	Oui
4	+	+	+	+	Oui
5	+	+	+	+	Oui
6	-	-	-	-	Oui
7	-	-	-	-	Oui
8	+	+	+	+	Oui
9	+	+	+	+	Oui
10	-	-	-	-	Oui
11	+	+	+	+	Oui
12	+	+	+	+	Oui
13	-	-	-	-	Oui
14	+	+	+	+	Oui
15	+	+	+	+	Oui
16	-	-	-	-	Oui
17	-	-	-	-	Oui
18	+	+	+	+	Oui
19	-	-	-	-	Oui
20	+	+	+	+	Oui
21	+	+	+	+	Oui
22	Équivoque	Équivoque	+	+	Oui
23	+	+	+	+	Oui
24	+	+	-	-	Oui
25	+	+	+	+	Oui
26	-	-	+	+	Oui
27	-	-	+	+	Oui
28	-	-	+	+	Oui
29	-	-	-	-	Oui
30	-	-	+	+	Oui

\*T1 : Analyse réalisé juste après décongélation

\*\*T2 : Analyse réalisée 2 h après T1

Le coefficient de concordance Kappa obtenu est égal à 1, ce qui correspond à un accord excellent entre les deux analyses. Nous pouvons donc conclure à l'absence d'interférence du délai après décongélation sur les titres en anticorps anti-parvovirus B19.

## 6. Étude de la contamination inter-échantillon

Une étude de la contamination inter-échantillon a été réalisée, bien que l'automate utilise des cônes à usage unique pour chaque échantillon et rince ses sondes entre chaque prélèvement. Cette étude permet donc d'évaluer la performance du système de lavage.

Le même protocole a été appliqué pour le dosage des IgM et des IgG. Pour chaque paramètre, nous avons sélectionné un sérum de titre élevé (noté H) et un sérum de titre faible (noté B) provenant de la sérothèque. La séquence suivante a été réalisée : trois dosages consécutifs sur le niveau haut (H) suivi de trois dosages sur le niveau bas (B). Ce cycle a été répété cinq fois.

À partir des résultats obtenus, le pourcentage de contamination « p » a été calculé selon la formule suivante :

$$p(\%) = \frac{\text{moyenne des B1} - \text{moyenne des B3}}{\text{moyenne des H} - \text{moyenne des B3}} \times 100$$

**Tableau XIII - Résultats des tests de contamination pour les IgM anti-parvovirus B19**

	Cycle 1		Cycle 2		Cycle 3		Cycle 4		Cycle 5	
<b>Niveau haut (H)</b>	<b>H1</b>	9,52	<b>H1</b>	9,6	<b>H1</b>	10	<b>H1</b>	9,71	<b>H1</b>	9,67
	<b>H2</b>	10,1	<b>H2</b>	9,62	<b>H2</b>	9,59	<b>H2</b>	9,66	<b>H2</b>	10
	<b>H3</b>	9,01	<b>H3</b>	9,93	<b>H3</b>	9,52	<b>H3</b>	9,53	<b>H3</b>	9,83
<b>Niveau bas (B)</b>	<b>B1</b>	1,03	<b>B1</b>	1,03	<b>B1</b>	1,05	<b>B1</b>	1,06	<b>B1</b>	1,06
	<b>B2</b>	1,03	<b>B2</b>	1,05	<b>B2</b>	1,05	<b>B2</b>	1,05	<b>B2</b>	1,04
	<b>B3</b>	1,05	<b>B3</b>	1,05	<b>B3</b>	1,03	<b>B3</b>	1,07	<b>B3</b>	1,05

Pour les IgM, le pourcentage de contamination obtenu est égal à 0,046%.

**Tableau XIV - Résultats des tests de contamination pour les IgG anti-parvovirus B19**

	Cycle 1		Cycle 2		Cycle 3		Cycle 4		Cycle 5	
<b>Niveau haut (H)</b>	<b>H1</b>	83,8	<b>H1</b>	76	<b>H1</b>	83,5	<b>H1</b>	85,7	<b>H1</b>	85,6
	<b>H2</b>	87,2	<b>H2</b>	85,3	<b>H2</b>	79	<b>H2</b>	87,3	<b>H2</b>	87,5
	<b>H3</b>	81,7	<b>H3</b>	87,7	<b>H3</b>	76,3	<b>H3</b>	86,2	<b>H3</b>	79,8
<b>Niveau bas (B)</b>	<b>B1</b>	3,32	<b>B1</b>	3,4	<b>B1</b>	3,42	<b>B1</b>	3,61	<b>B1</b>	3,41
	<b>B2</b>	3,32	<b>B2</b>	3,36	<b>B2</b>	3,25	<b>B2</b>	3,37	<b>B2</b>	3,46
	<b>B3</b>	3,41	<b>B3</b>	3,36	<b>B3</b>	3,36	<b>B3</b>	3,5	<b>B3</b>	3,32

Pour les IgG, le pourcentage de contamination obtenu est égal à 0,052 %.

Étant donné l'absence de recommandations concernant le pourcentage de contamination à ne pas dépasser, nous nous sommes fixés comme objectif l'incertitude de mesure calculée pour ce paramètre.

Pour les deux paramètres (IgM et IgG anti-parvovirus B19), le pourcentage de contamination est inférieur à 5% soit significativement inférieur à l'incertitude de mesure connue et calculée pour la sérologie parvovirus B19 avec l'ancienne technique (25%). L'analyse est donc conforme aux exigences du laboratoire.

## V. Discussion

Dans un souci d'amélioration constante du processus qualité, un dialogue perpétuel est maintenu avec les cliniciens, ainsi qu'avec les fournisseurs de réactifs et de systèmes analytiques.

Ce travail de thèse s'inscrit dans la démarche qualité du laboratoire, en répondant à plusieurs problématiques.

### 1. Problématique épidémiologique

En parallèle de ce travail de thèse, un bulletin émanant de Santé Publique France publié en date du 22 avril 2024 et actualisé en juin 2024, a relaté une situation préoccupante concernant les infections par le parvovirus B19 en France (51,52).

En effet, une épidémie touchant l'ensemble du territoire français et toutes les catégories d'âge, avec une incidence particulièrement notable chez les enfants, a été observée depuis mai 2023. L'intensité de cette épidémie a progressé au cours du dernier trimestre de 2023 pour culminer en mars 2024.

La collecte et l'analyse de données par Santé Publique France ont permis de faire état de la situation épidémique du parvovirus B19 en France en 2024, en comparaison aux années précédentes. Les données utilisées provenaient de différentes sources :

- Le réseau 3Labos, qui recense les résultats des laboratoires Cerballiance et Eurofins-Biomnis, par l'analyse des résultats des tests PCR et de sérologie IgM anti-parvovirus B19,
- Les données de passage aux urgences collectées par le réseau OSCOUR® (Organisation de la surveillance coordonnée des urgences), via l'analyse des codes utilisés pour identifier une infection à parvovirus B19,
- Les données du réseau SOS Médecin,
- Les données des laboratoires de virologie hospitaliers, obtenues par une enquête réalisée en mai 2024, qui a permis de recenser le nombre de

prélèvements réalisés et le nombre de prélèvements positifs sur sang fœtal et sur liquide amniotique pour le parvovirus B19,

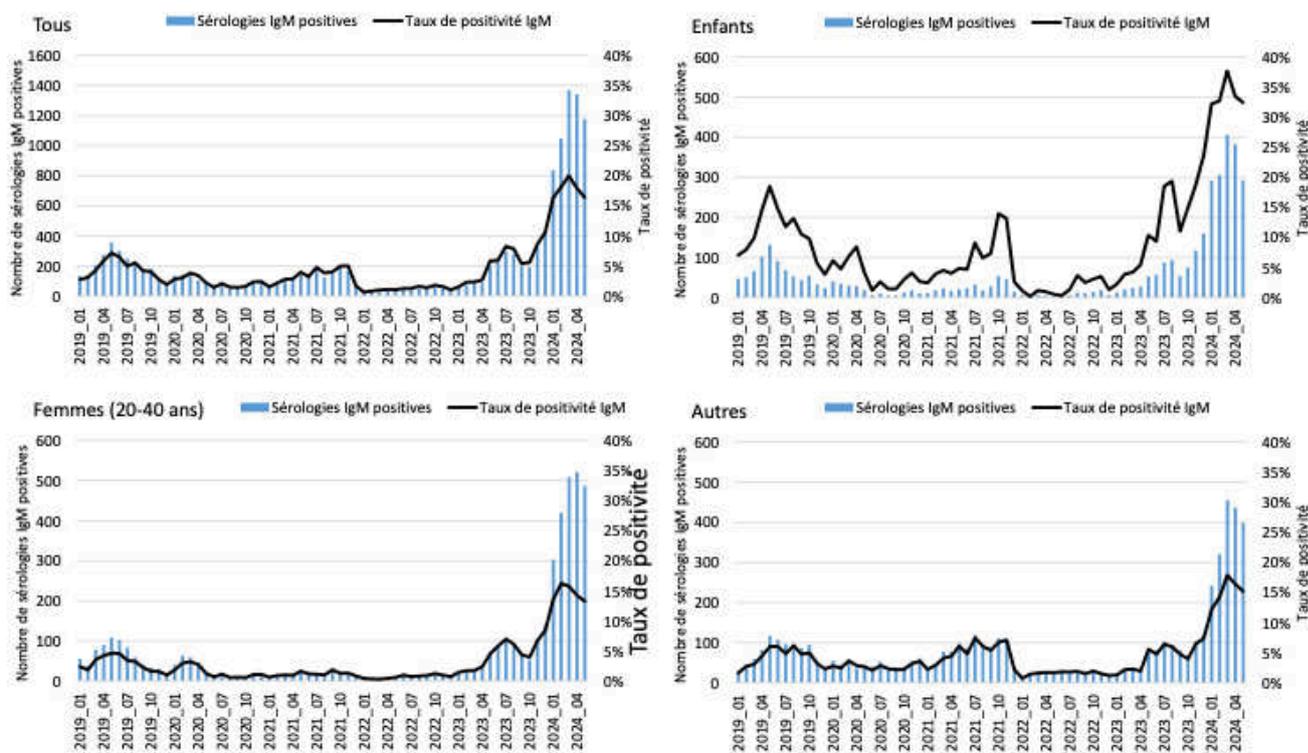
- Les données du CépiDC (Centre d'Épidémiologie sur les Causes Médicales de Décès), obtenues par l'étude des certificats de décès mentionnant le parvovirus B19.

Les observations cliniques ont rapporté une augmentation du nombre de fausses couches et de morts fœtales associées à une infection par le parvovirus B19 dans les services de périnatalité.

Les analyses des données des laboratoires ont révélé une augmentation significative du nombre de prélèvements positifs au parvovirus B19 : le CHU de Cochin a rapporté que le nombre de prélèvements positifs à parvovirus B19 aurait triplé au cours des huit premiers mois de 2023 en comparaison à l'année 2022. La présence du parvovirus B19 dans les échantillons de liquide amniotique aurait notamment largement dépassé les niveaux habituels.

Par ailleurs, une augmentation des cas d'infections sévères à parvovirus B19 a été signalée à Santé publique France par certains médecins urgentistes et réanimateurs.

La surveillance virologique a révélé une augmentation du nombre de diagnostics d'infection à parvovirus B19 de novembre 2023 à avril 2024, dans les trois groupes démographiques suivants : les enfants de moins de 15 ans, les femmes âgées de 20 à 40 ans et les personnes âgées de 15 ans ou plus (**Figure 17**).



**Figure 17** - Nombre de tests IgM positifs pour infection à parvovirus B19 et taux de positivité global dans les trois catégories de la population (enfants, femme de 20 à 40 ans, et autres), en France, de janvier 2019 à mai 2024, d'après Santé Publique France (52)

Au total, le nombre de prélèvements de sang fœtal et de liquide amniotique positifs à parvovirus B19, ainsi que le nombre de passages aux urgences et d'actes réalisés par SOS Médecins pour suspicion d'infection par le parvovirus B19 a connu une augmentation en 2023-2024, selon les données recueillies par Santé Publique France. Une tendance à la hausse du taux de décès moyen annuel associé à une infection par le parvovirus B19 a également été observée : évalué à 1,8 décès par an pour la période 2015-2019, il s'élèverait à 3,5 décès par an de 2020 à 2024. De janvier à juin 2024, 5 décès liés au parvovirus B19 ont été recensés, tous survenus chez des enfants de moins d'un an. Parmi ces décès, quatre seraient survenus à la suite d'une infection congénitale à parvovirus B19.

Les recommandations nationales soulignent l'importance de surveiller de près l'impact de cette épidémie, en particulier chez les populations les plus vulnérables : les individus immunodéprimés, les patients souffrant d'anémie chronique et les femmes enceintes (51,52).

## 2. Problématique clinique

Afin d'assurer une prise en charge optimale du patient, une approche multidisciplinaire impliquant un dialogue étroit entre cliniciens et biologistes est adoptée. Le biologiste, par la prestation de conseils, fournit des précisions sur les résultats d'analyse et conseille le clinicien sur d'éventuelles analyses complémentaires à effectuer pour établir un diagnostic. Cela suggère que le biologiste doit avoir une connaissance approfondie des techniques d'analyses utilisées au laboratoire et justifie l'élaboration d'un dossier de vérification de méthode élaboré.

En effet, le dossier de vérification de méthode permet au biologiste de prendre du recul sur la technique afin d'en connaître les spécificités, les avantages ainsi que les limites. Cette connaissance approfondie de la technique profite au clinicien en le guidant dans la démarche diagnostique du patient.

Par la réalisation de ce dossier de vérification de méthode, nous avons pu mettre en évidence les performances ainsi que les limites des tests de sérologie pour le parvovirus B19.

### A. Interférences : pourquoi réaliser leur étude ?

Les interférences peuvent conduire à des résultats erronés en modifiant la concentration de l'analyte mesuré, soit à la hausse (faux positif) soit à la baisse (faux négatif). Elles altèrent la liaison de l'anticorps à l'antigène. Elles peuvent provenir de substances endogènes (comme les auto-anticorps ou la lipémie), exogènes (tels que les médicaments, par exemple les injections d'immunoglobulines polyvalentes), ou liées aux variations pré-analytiques (comme la pose prolongée du garrot lors du prélèvement, qui peut être responsable de l'hémolyse du prélèvement) (53). La survenue d'interférences varie d'une personne à une autre. Il est important de connaître les causes possibles d'interférences pour interpréter les résultats de l'automate de manière critique et éviter une mauvaise interprétation. L'expertise du biologiste, qui alerte sur la présence possible d'interférences, apporte une valeur ajoutée au clinicien et lui permet d'adapter l'interprétation du résultat.

Au cours de ce travail, nous avons étudié les interférences de l'hémoglobine, et du délai après décongélation sur les résultats de sérologie du parvovirus B19.

L'étude de l'interférence de l'hémoglobine n'a pas été concluante en raison de la difficulté à reproduire une hémolyse dans un sérum de patient. Le protocole utilisé nécessite des améliorations. En effet, nous avons été confronté à certaines difficultés liées à une contamination de notre solution globulaire, notamment du fait de la présence d'IgG anti-parvovirus B19 dans le pool globulaire, ce qui a conduit à une surestimation des titres en anticorps. Ces résultats restent à affiner dans une éventuelle étude secondaire.

D'autres interférences aurait pu être étudiées, notamment l'étude de l'impact :

- d'une interférence médicamenteuse (par exemple, en cas de perfusion d'immunoglobulines polyvalentes),
- de la présence de facteurs rhumatoïdes,
- de l'effet matrice (sérum / plasma).

La politique du laboratoire de l'hôpital Saint Philibert veut que seuls les tubes secs permettant le recueil de sérum soient utilisés en sérologie, bien que l'utilisation de plasmas prélevés sur tube héparine, EDTA et citrate de sodium ait été validée par le fournisseur Diasorin pour la réalisation de la sérologie parvovirus B19. Il serait intéressant de vérifier l'absence d'impact de la matrice choisie sur les résultats de sérologie, afin d'élargir les critères d'acceptabilité des échantillons pour inclure également le plasma.

Concernant le principe de l'abaque de lecture, il permet une appréciation visuelle de la conformité de l'échantillon. Cette méthode est subjective et son utilisation varie d'une personne à l'autre selon la capacité à différencier l'intensité des couleurs, mais aussi selon la formation et l'expérience professionnelle (54). Le laboratoire étant actuellement dans une démarche de renouvellement de ses automates, ce travail nous a permis de souligner l'importance de la détection automatisée des interférences « HIL » qui sera d'ailleurs proposée dans l'appel d'offres.

## B. Contamination

Au cours de ce travail, nous avons réalisé une étude de la contamination inter-échantillons. Cette étude a pour but de vérifier les performances de l'automate et de s'assurer qu'un échantillon contenant une forte concentration d'anticorps anti-

parvovirus B19 ne contamine pas un échantillon suivant négatif ou contenant une faible concentration en anticorps.

La sérologie parvovirus B19 étant réalisée dans un cadre totalement automatisé, par un automate utilisant des cônes à usage unique et des systèmes de rinçage, l'intérêt de cette étude peut être discuté.

### 3. Problématique industrielle

Par la commercialisation d'un nouveau kit de réactifs pour la réalisation de la sérologie parvovirus B19, et l'arrêt de la commercialisation de l'ancienne référence de réactifs, la société Diasorin nous impose donc de réévaluer cette nouvelle technique de dosage. En conséquence et en lien avec nos obligations de maintien de l'accréditation, nous avons dû procéder à la réalisation d'un dossier de vérification de méthode.

En effet, la sérologie parvovirus B19 est une analyse accréditée au laboratoire, et tout changement dans la procédure doit faire l'objet de la rédaction d'une portée flexible d'accréditation, non détaillée au cours de ce travail (Annexe 2), ainsi que d'un dossier de vérification de méthode afin de satisfaire aux exigences du processus qualité auquel le laboratoire est soumis.

Par l'étude de la comparaison de méthodes, le laboratoire s'assure de la comparabilité des résultats obtenus avec les deux réactifs. Si les réactifs ne donnent pas de résultats comparables, il convient de signaler au clinicien qu'une rupture d'antériorité doit être appliquée, ce qui signifie que les résultats antérieurs ne doivent pas être pris en compte. Cette information a toute son importance dans le suivi du patient.

#### 4. Challenges rencontrés lors d'une vérification de méthode en sérologie infectieuse

Lors de la réalisation d'un dossier de vérification de méthode il est important d'interpréter les valeurs obtenues en les comparant à des valeurs de référence issues de sociétés savantes ou de publications scientifiques. Une des premières difficultés est qu'en infectiologie, et notamment en sérologie infectieuse, il existe très peu de recommandations comparé à ce que l'on trouve en biochimie automatisée. C'est ainsi qu'au cours de ce travail, nous avons par exemple fixé les CV limites de la répétabilité en appliquant la méthodologie suivante : le CV limite est choisi en référence à la moyenne des CV observés dans les groupes de pairs de l'année, en appliquant la formule de Vassault *et al.* (55) : CV répétabilité = CV reproductibilité x 0.75.

D'autre part, une deuxième difficulté réside dans la particularité de la sérologie où parfois les résultats peuvent être exprimés sous différentes formes : ratios, indices, valeurs semi quantitatives, valeurs supérieures ou inférieures au domaine de mesure etc. Ainsi, l'exploitation des données peut être délicate, notamment pour les échantillons d'évaluation externe de qualité (EEQ) dont les résultats peuvent être, ou non, statistiquement exploitées.

Troisièmement, la plupart du temps, les sérologies comprennent une zone grise, où les résultats sont douteux. Il serait intéressant de pouvoir calculer l'incertitude de mesure au sein de cette zone grise. En effet, c'est dans ce cas bien particulier que l'incertitude de mesure a une vraie valeur ajoutée cliniquement. Néanmoins, aucun contrôle de qualité interne ayant une valeur cible autour de la zone grise n'est commercialisé ou fourni par le fabricant du réactif. En général, quatre ou cinq EEQ sont réalisés chaque année. Il est souvent difficile d'obtenir un nombre suffisant de résultats positifs ayant le même niveau que celui du CQI.

## VI. Conclusion et perspectives

C'est dans un contexte d'épidémie à parvovirus B19 que j'ai eu l'opportunité de participer à la réalisation du dossier de vérification de méthode pour son analyse par sérologie sur l'automate Liaison XL de la société Diasorin. Cette expérience s'est avérée extrêmement enrichissante car elle m'a permis d'élargir mes connaissances dans les deux domaines que sont la qualité au laboratoire et la virologie. Elle vient compléter la formation théorique et pratique que j'ai suivie en stage de virologie au CHU de Lille, ainsi que celle acquise dans les différents stages réalisés durant mon internat en Biologie Médicale.

Une actualisation de la norme NF EN ISO15189, version V.2022, allège les exigences concernant la réalisation d'un dossier de vérification de méthode, sous réserve que l'on puisse justifier à la fois techniquement et cliniquement nos décisions. La biologie médicale n'étant pas figée mais en perpétuelle renouvellement, ce travail m'a permis de constater que le biologiste peut mettre à profit toutes les connaissances acquises au fil des années (cours, stages d'internat) pour modeler et diriger un projet, initialement formel, vers un système davantage orienté vers le patient.

De plus, ce travail a apporté une contribution concrète au laboratoire de l'hôpital Saint Philibert par la réalisation des tests des nouveaux réactifs et la rédaction du dossier de vérification de méthode. L'utilité de ce travail est donc double : il contribue à ma formation personnelle tout en répondant de manière significative aux besoins du laboratoire.

Les résultats obtenus au cours de ce dossier de vérification de méthode sont conformes aux exigences du laboratoire, garantissant un rendu fiable des résultats aux prescripteur, et *in fine*, aux patients. Cependant, des études ultérieures pourraient être menées pour compléter ou approfondir certains points :

- Une étude approfondie de l'impact des interférences HIL par l'utilisation d'un patient « témoin » à qui l'on pourrait prélever plusieurs tubes de sérum auxquels une quantité croissante d'interférent sera ajoutée,
- Une étude de l'incertitude de mesure autour de la zone grise. Un travail de recherche devra être mené pour trouver un fournisseur commercialisant des

contrôles dont la valeur cible est proche de la zone douteuse. Une collaboration inter-laboratoires pourrait également être mise en œuvre, comme cela se fait parfois avec les EEQ,

- Un travail collaboratif avec nos prescripteurs gynécologues-obstétriciens concernant, en sérologie, les risques de faux positifs en IgM avec certaines techniques, ou la persistance des IgM qui peuvent, dans certains cas, persister plusieurs mois voire années dans le sérum.

## **ANNEXES**

### **Annexe 1 : Détermination des CV fournisseur**



DiaSorin Italia S.p.A. con socio unico  
Via Crescentino, snc  
13040 Saluggia (VC) Italy  
tel. +39 / 0161.487526/947  
fax +39 / 0161.487670

Saluggia, 17<sup>th</sup> July, 2023

Subject: LIAISON® Biotrin Parvo B19 IgG and IgM Plus (code 311540 and 311560)

Dear valued customer,

The LIAISON® Biotrin Parvo B19 IgG and IgM Plus IgG were designed to have the following intra- and inter-Assay Coefficients of Variability, with known concentrations of the analytes (usually a high and low value).

Code	Assay	Inter-assay CV%	Intra-assay CV%
311540	LIAISON® Biotrin Parvo B19 IgG Plus	<15	<15
311560	LIAISON® Biotrin Parvo B19 IgM Plus	<15	<15

**Fulvio Garetto**  
European Customer Care Senior Director  
DiaSorin Italia S.p.A. con socio unico

*The information contained in this letter is confidential and intended for the sole use of the recipient. You should not copy or use it for any purpose, disclose the contents of the same to any other person or forward it without express permission.*

Capitale Sociale 1.000.000 Euro i.v. - R.E.A. VC 305496  
Codice Fiscale Partita IVA 02749260028  
Sede Legale in Saluggia - Via Crescentino, snc, CAP 13040  
Società sottoposta all'attività di direzione e coordinamento di DiaSorin S.p.A.

[diasoringroup.com](http://diasoringroup.com) [diasorin.com](http://diasorin.com) 1/1

## Annexe 2 : Portée flexible

	<b>LABORATOIRE</b>	Pages : 1 / 6
	<b>Formulaire d'enregistrement :</b> Fiche de suivi de modification de la portée flexible	Date d'application : 20/03/2024 Indice de révision : 6 Ref. HK1-ENR03

### Documents associés :

HD1-PR04

[Gestion de la portée flexible d'accréditation \(HD1-PR04\)](#)

	SP	SV	EBMD
<b>ANALYSES :</b> Parvovirus IgG et IgM	<input checked="" type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

1. Description du besoin de modification de la portée flexible
<input type="checkbox"/> Examen nouveau <input checked="" type="checkbox"/> Examen modifié <input type="checkbox"/> Examen arrêté
<p><i>Expliquer les raisons de la modification de la portée du laboratoire</i> Suite à l'annonce de la société Diasorin en Août 2023 de la mise en production d'une nouvelle référence de réactif pour les analytes suivants Parvovirus B19 IgG Plus, Parvovirus B19 IgM Plus, le laboratoire adapte sa portée flexible en vue d'une mise en production au sein du laboratoire pour 2024.</p>

2. Achats
<b>Besoins :</b> <i>Expliquer les achats nécessaires engendrés par cette modification de la portée du laboratoire</i> Exemple : calibrants, contrôle, thermomètres, ... <i>Si aucun achat nécessaire, indiquer : Non concerné et passer au point suivant</i>
<b>Actions décidées :</b> Achats des réactifs, contrôles de qualité internes correspondants – Ancienne référence mise en non commandable
<b>Pilote(s) :</b> E.K, M.J.
<b>Délais :</b> Octobre 2023 - Février 2024
<b>Vérification de réalisation des actions :</b> OK

<b>Rédaction :</b> O. D Technicienne qualité  Date : 09/11/2023 Signature : La signature électronique fait foi	<b>Validation :</b> A. C Chef de pôle  Date : 17/02/2023 Signature : La signature électronique fait foi	<b>Approbation :</b> AF.G Biologiste Responsable Qualité  Date : 18/02/2023 Signature : La signature électronique fait foi
---	--	---

 <p>GROUPEMENT DES HÔPITAUX DE L'INSTITUT CATHOLIQUE DE LILLE</p>	<b>LABORATOIRE</b>  <b>Formulaire d'enregistrement :</b> <b>Fiche de suivi de modification de la portée flexible</b>	<b>Pages : 2 / 6</b>  <b>Date d'application :</b> 20/03/2024 <b>Indice de révision : 6</b> <b>Ref. HK1-ENR03</b>
--	---	---

3. Revue de l'organisation générale du laboratoire
<p><b>Besoins :</b>  <i>Expliquer les changements nécessaires dans l'organisation du laboratoire engendrés par cette modification de la portée du laboratoire (changement de référents, impact sur le planning, sur le ramassage des bilans, ...)</i>  <i>Si aucun changement, indiquer : Non concerné et passer au point suivant</i></p> <p><b>Actions décidées et documents à modifier :</b> Ce changement de techniques n'a pas d'impact sur l'organisation générale du laboratoire</p> <p><b>Pilote(s) :</b> BD</p> <p><b>Délais :</b> Non applicable</p> <p><b>Vérification de réalisation des actions :</b> OK</p>

4. Phase pré-analytique
<p><b>Besoins :</b> Prélèvement / Tubes / Conditions de transport / Revue des demandes</p> <p><i>Expliquer les changements nécessaires dans la phase pré-analytique engendrés par cette modification de la portée du laboratoire. Lister les mises à jour documentaires nécessaires (Catalogue des analyses, manuel de prélèvement, ...)</i>  <i>Si aucun changement, indiquer : Non concerné et passer au point suivant</i></p> <p><b>Actions décidées et documents à modifier :</b> Ce changement de techniques n'a pas d'impact sur la phase pré-analytique</p> <p><b>Pilote(s) :</b> B.D</p> <p><b>Délais :</b> Non applicable</p> <p><b>Vérification de réalisation des actions :</b> OK</p>

5. Revue de contrats
<p><b>Besoins :</b>  <i>Expliquer les changements engendrés par cette modification de la portée du laboratoire dans les contrats déjà signés par le laboratoire ainsi que dans les nouveaux contrats</i></p> <p><b>Actions décidées et contrats à modifier :</b> Ce changement de techniques n'ont pas d'impact sur la revue de contrats</p> <p><b>Clients à prévenir :</b> Non applicable</p> <p><b>Pilote(s) :</b> B. D</p> <p><b>Délais :</b> Non applicable</p> <p><b>Vérification de réalisation des actions :</b> OK</p>

	<b>LABORATOIRE</b>  <b>Formulaire d'enregistrement :</b> <b>Fiche de suivi de modification de la portée flexible</b>	<b>Pages : 3 / 6</b>  <b>Date d'application :</b> 20/03/2024 <b>Indice de révision : 6</b> <b>Ref. HK1-ENR03</b>
---	---	---

6. Phase analytique
<p><b>Besoins :</b>  Expliquer les changements nécessaires dans la phase analytique et les éventuels modes opératoires à créer ou modifier en raison de cette modification de la portée du laboratoire (impact sur l'utilisation de l'automate, la gestion de la documentation externe, les conditions environnementales, la métrologie, les maintenances ...)</p> <p><b>Actions décidées et documents à modifier :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Modification du mode opératoire HD3-MO18 - Utilisation du Liaison XL pour inclure les nouveaux codes automate : Parv-Mp , Parv-Gp</li> <li>- Modification du document HD2-IM-INS01 - Validation analytique des sérologies (dont AES) sur Centaur et Liaison XL</li> </ul> <p><b>Pilote(s) :</b> B.D</p> <p><b>Délais :</b> Décembre 2023</p> <p><b>Vérification de réalisation des actions :</b> OK</p>

7. Formation/Habilitation/Maintien des compétences du personnel
<p><b>Besoins en formation/habilitation :</b>  Expliquer les besoins en formation du personnel engendrés par cette modification de la portée du laboratoire, ainsi que les nouvelles habilitations nécessaires</p> <p><b>Actions décidées :</b> Information des techniciens et biologistes. Ces analyses seront réalisées sur l'automate de sérologie actuel et ne nécessitera pas pour leur mise en œuvre de compétences techniques supplémentaires.</p> <p><b>Pilote(s) :</b> BD</p> <p><b>Délais :</b> Février 2024</p> <p><b>Vérification de réalisation des actions :</b> OK</p>

8. CIQ et EEQ
<p><b>Modalités de gestion et de mise en place des cartes de contrôle pour le CIQ :</b>  Exemple : stratégie de passage des CIQ (fréquence, nombre de niveaux) ; type de contrôles choisis (CIQ, CIQ externalisés) ; ...</p> <p><b>Participation à un EEQ et exploitation des résultats obtenus :</b>  Exemple : abonnement à l'EEQ organisé par, changement de groupe de pairs (indiquer le changement de technique), ...</p> <p>Les EEQ restent les mêmes. Un paramétrage sera réalisé sur le site du fournisseur d'EEQ pour tenir compte du nouveau réactif. Les nouveaux CQI (un niveau bas et un niveau haut) seront paramétrés dans URT et UC2 et feront l'objet d'une fidélité intermédiaire. Les performances attendues et paramétrées dans URT seront mises à jour.</p> <p><b>Pilote(s) :</b> B. D</p> <p><b>Délais :</b> Novembre - Décembre 2023</p> <p><b>Vérification de réalisation des actions :</b> OK</p>

 <p>GROUPEMENT DES HÔPITAUX DE L'INSTITUT CATHOLIQUE DE LILLE</p>	<p><b>LABORATOIRE</b></p> <p><b>Formulaire d'enregistrement :</b> <b>Fiche de suivi de modification de la portée flexible</b></p>	<p>Pages : 4 / 6</p> <p>Date d'application : 20/03/2024 Indice de révision : 6 Ref. HK1-ENR03</p>
--	---	---

9. Modifications informatiques
<p><b>Besoins :</b> <i>Expliquer les modifications nécessaires du SIL et des connexions associées (connexion, paramétrage, rapports, sauvegardes, gestion du compte-rendu de résultats, ...) engendrés par cette modification de la portée du laboratoire.</i> <i>Le cas échéant, penser à supprimer le commentaire sur le compte-rendu de résultats (le délai sera choisi en fonction de l'examen).</i></p> <p><input type="checkbox"/> Si analyse nouvellement accréditée, retirer l'étoile sur le compte-rendu (libellé analyse GLIMS) et ajouter la date d'accréditation (méthode d'évaluation GLIMS).</p> <p><b>Actions décidées :</b> Ces nouvelles références nécessitent un paramétrage sur le Liaison XL (ajout d'une nouvelle technique, ceci ayant été réalisé par l'ingénieur d'application)</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Onelink : paramétrage à effectuer : dans affectation des tests, modifier le code automate lors de la bascule/ Par-Gp et Par-Mp. Modification des règles d'expertise : XL_PB05, 06, 7a, 7b, 7c, 7d, 7e, 7f, 9, 10, 11, 12, 12bis, 14, 15b, 16, 17, 18, 18b, 19, 31, 32, 33, 34</li> <li>- Glims – Cyberlab : pas d'impact pour les codes automates</li> </ul> <p>Nous ne réalisons pas de rupture d'antériorité pour les sérologies Parvovirus car même si les valeurs de référence sont modifiées pour les IgG, s'agissant d'une méthode qualitative, l'interprétation n'est pas modifiée.</p> <p>Dossier test : <a href="#">P240850471</a></p> <p><b>Pilote(s) : B.D</b></p> <p><b>Délais : Février 2024</b></p> <p><b>Vérification de réalisation des actions : OK</b></p>

10. Valeurs de référence et interprétation des résultats
<p><b>Besoins :</b> <i>Expliquer les éventuels changements dans les valeurs de référence engendrés par cette modification de la portée du laboratoire</i> Modification des valeurs pour Parvo IgG dans Onelink et Glims au moment de la bascule</p> <p><b>Pilote(s) : B.D</b></p> <p><b>Délais : Février 2024</b></p> <p><b>Vérification de réalisation des actions : OK</b></p>

 <p>GROUPEMENT DES HÔPITAUX DE L'INSTITUT CATHOLIQUE DE LILLE</p>	<b>LABORATOIRE</b>  <b>Formulaire d'enregistrement :</b> <b>Fiche de suivi de modification de la portée flexible</b>	<b>Pages : 5 / 6</b>  <b>Date d'application :</b> 20/03/2024 <b>Indice de révision : 6</b> <b>Ref. HK1-ENR03</b>
--	---	---

### 11. Validation biologique et prestation de conseils

<p><b>Besoins :</b>  <i>Expliquer les changements à apporter aux critères de validation biologique engendrés par cette modification de la portée du laboratoire</i></p> <p><b>Actions décidées et documents à modifier :</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Note d'information aux techniciens et biologistes.</li> <li>- Note d'informations aux cliniciens</li> </ul> <p>Par rapport à la modification des valeurs de référence pour les IgG Parvovirus</p> <p><b>Pilote(s) :</b> B.D</p> <p><b>Délais :</b> Non applicable</p> <p><b>Vérification de réalisation des actions :</b> OK</p>
--

### 12. Phase post-analytique

<p><b>Besoins :</b>  <i>Expliquer les autres changements à apporter à la phase post-analytique (Conservation des échantillons, sérothèque, ...) engendrés par cette modification de la portée du laboratoire</i></p> <p><b>Actions décidées et documents à modifier:</b>  Aucun changement n'est à apporter à la phase post-analytique. La conservation des échantillons et dans la sérothèque reste inchangée.</p> <p><b>Pilote(s) :</b> B.D</p> <p><b>Délais :</b> Non applicable</p> <p><b>Vérification de réalisation des actions :</b> OK</p>
--

### 13. et 14. Dossier de vérification de méthodes et estimation des incertitudes

<p><b>Pilote(s) :</b> B.D  Modification du DVM-IM-36 – IgM anti-Parvovirus B19, du DVM-IM-35 – IgG anti-Parvovirus B19</p> <p><b>Délais :</b> Décembre 2023</p> <p><b>Vérification de réalisation des actions :</b> OK</p>
--

	<b>LABORATOIRE</b>  <b>Formulaire d'enregistrement :</b> <b>Fiche de suivi de modification de la portée flexible</b>	<b>Pages : 6 / 6</b>  <b>Date d'application :</b> 20/03/2024 <b>Indice de révision : 6</b> <b>Ref. HK1-ENR03</b>
---	---	---

15. Système Management de la Qualité
<b>Besoins :</b> <i>Expliquer les éventuelles modifications à apporter au système de management de la Qualité (modification ou mise en place d'un indicateur qualité, modification du planning d'audit annuel, ...)</i>
<b>Actions décidées et documents à modifier :</b> Audit interne à prévoir en 2024 (audit de traçabilité).
<b>Pilote(s) :</b> AFG
<b>Délais :</b> 2024
<b>Vérification de réalisation des actions :</b> Prévu en 2024

16. Information des clients
<b>Pilote(s) :</b> BD
<b>Date de réalisation :</b> 26/02/2024

17. Information du COFRAC
<b>Pilote(s) :</b> AFG
<b>Date de réalisation :</b> 27/02/2024

18. Mise à jour du tableau des portées et de la liste détaillées des examens de la portée (si besoin)
<b>Pilote(s) :</b> AFG
<b>Date de réalisation :</b> 27/02/2024

19. Autorisation d'emploi sous accréditation
<b>Autorisé par :</b> BD
<b>Date :</b> 27/02/2024

Remarques / Autres actions décidées :

## **BIBLIOGRAPHIE**

1. Anderson MJ. Human parvovirus infections. *J Virol Methods*. août 1987;17(1-2):175-81.
2. Carreras LO, Vermynen J. Parvovirus infection and hypoplastic crisis in sickle-cell anaemia. *The Lancet*. mars 1981;317(8221):665.
3. Parsyan A, Candotti D. Human erythrovirus B19 and blood transfusion – an update. *Transfus Med*. août 2007;17(4):263-78.
4. Jain A, Kant R. Genotypes of erythrovirus B19, their geographical distribution & circulation in cases with various clinical manifestations. *Indian J Med Res*. mars 2018;147(3):239-47.
5. Jacquot R, Gerfaud-Valentin M, Mekki Y, Billaud G, Jamilloux Y, Sève P. Infection de l'adulte à Parvovirus. *Rev Médecine Interne*. déc 2022;43(12):713-26.
6. Broliden K, Tolfvenstam T, Norbeck O. Clinical aspects of parvovirus B19 infection. *J Intern Med*. oct 2006;260(4):285-304.
7. Thomas Mourez, Sonia Burrel, David Boutolleau, Sylvie Pillet. *Traité de virologie médicale*. 2ème édition. 2019.
8. Heegaard ED, Brown KE. Human parvovirus B19. *Clin Microbiol Rev*. juill 2002;15(3):485-505.
9. Brown KE, Anderson SM, Young NS. Erythrocyte P Antigen: Cellular Receptor for B19 Parvovirus. *Science*. oct 1993;262(5130):114-7.
10. Hirai H, Kubo H, Yamaya M, Nakayama K, Numasaki M, Kobayashi S, et al. Microsatellite polymorphism in heme oxygenase-1 gene promoter is associated with susceptibility to oxidant-induced apoptosis in lymphoblastoid cell lines. *Blood*. 1 sept 2003;102(5):1619-21.
11. Munakata Y, Saito-Ito T, Kumura-Ishii K, Huang J, Koderia T, Ishii T, et al. Ku80 autoantigen as a cellular coreceptor for human parvovirus B19 infection. *Blood*. 15 nov 2005;106(10):3449-56.
12. Ganaie SS, Qiu J. Recent Advances in Replication and Infection of Human Parvovirus B19. *Front Cell Infect Microbiol*. 5 juin 2018;8:166.
13. Qiu J, Söderlund-Venermo M, Young NS. Human Parvoviruses. *Clin Microbiol Rev*. janv 2017;30(1):43-113.
14. Dittmer FP, Guimarães C de M, Peixoto AB, Pontes KFM, Bonasoni MP, Tonni G, et al. Parvovirus B19 Infection and Pregnancy: Review of the Current Knowledge. *J Pers Med*. févr 2024;14(2):139.
15. Servant-Delmas A, Morinet F. Update of the human parvovirus B19 biology. *Transfus Clin Biol*. févr 2016;23(1):5-12.
16. Pillonel J, Brouard C, Laperche S, Barin F, Bernillon P, De Valk H. Estimation quantitative du risque de contamination d'un don de sang par des agents infectieux. *Transfus Clin Biol*. mai 2009;16(2):138-45.
17. Brodin-Sartorius A, Mekki Y, Bloquel B, Rabant M, Legendre C. Infection par le Parvovirus B19 après transplantation rénale. *Néphrologie Thérapeutique*. 1 févr 2012;8(1):5-12.
18. Crane J, Mundle W, Boucoiran I. Infection au parvovirus B19 pendant la grossesse. *J Obstet Gynaecol Can*. déc 2016;38(12):S525-36.
19. Subtil D, Garabedian C, Chauvet A. Infection à parvovirus B19 et grossesse. *Presse Médicale*. 1 juin 2015;44(6, Part 1):647-53.
20. Kagan KO, Hoopmann M, Geipel A, Sonek J, Enders M. Prenatal parvovirus B19 infection. *Arch Gynecol Obstet* [Internet]. 29 juill 2024 [cité 31 juill 2024]; Disponible sur: <https://doi.org/10.1007/s00404-024-07644-6>

21. Tolfvenstam T, Broliden K. Parvovirus B19 infection. *Semin Fetal Neonatal Med.* août 2009;14(4):218-21.
22. Gigi CE, Anumba DOC. Parvovirus b19 infection in pregnancy – A review. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* sept 2021;264:358-62.
23. Brenda L. Tesini. *Manuels MSD pour le grand public.* 2023. Mégalérythème épidémique (infection au parvovirus B19) - Problèmes de santé infantiles.
24. Hatakka A, Klein J, He R, Piper J, Tam E, Walkty A. Acute Hepatitis as a Manifestation of Parvovirus B19 Infection. *J Clin Microbiol.* 21 déc 2020;49(9):3422-4.
25. Mogensen TH, Jensen JMB, Hamilton-Dutoit S, Larsen CS. Chronic hepatitis caused by persistent parvovirus B19 infection. *BMC Infect Dis.* 20 août 2010;10:246.
26. Douvoyiannis M, Litman N, Goldman DL. Neurologic Manifestations Associated with Parvovirus B19 Infection. *Clin Infect Dis.* 15 juin 2009;48(12):1713-23.
27. DES-PARVOVIRUS18072017.pdf [Internet]. [cité 14 mai 2024]. Disponible sur: <https://www.nephrologue.be/file/2017/07/DES-PARVOVIRUS18072017.pdf>
28. Vanaparthi R, Mahdy H. Hydrops Fetalis. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 [cité 9 déc 2023]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK563214/>
29. Brochot C, Debever P, Subtil D, Puech F. Quelles surveillance et thérapeutique appliquer en cas de contagé avec le Parvovirus B19 en cours de grossesse ? *Gynécologie Obstétrique Fertil.* févr 2008;36(2):204-11.
30. Parvovirus AVIQ.pdf [Internet]. [cité 15 déc 2023]. Disponible sur: <https://matra.sciensano.be/Fiches/Parvovirus.pdf>
31. Fritz G. LE DOPPLER EN OBSTÉTRIQUE FORMATION ECHOFŒTUS 16 SEPTEMBRE 2016.
32. Jindal A, Sharma M, Karena ZV, Chaudhary C. Amniocentesis. In: *StatPearls* [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2024 [cité 7 août 2024]. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK559247/>
33. Subtil D, Garabedian C, Chauvet A. Infection à parvovirus B19 et grossesse. *Presse Médicale.* juin 2015;44(6):647-53.
34. IVI. IVI France. 2023 [cité 31 juill 2024]. Les risques du processus d'amniocentèse pendant la grossesse. Disponible sur: <https://ivi-fertilite.fr/blog/risques-processus-amniocentese/>
35. Guilbaud L, Maisonneuve E, Maurice P, Dhombres F, Lafon B, Mallet A, et al. Comment je fais...une transfusion in utero ? *Gynécologie Obstétrique Fertil Sénologie.* mars 2021;49(3):208-12.
36. Matsuda H, Sakaguchi K, Shibasaki T, Takahashi H, Kawakami Y, Furuya K. Intrauterine therapy for parvovirus B19 infected symptomatic fetus using B19 IgG-rich high titer gammaglobulin. *J Perinat Med* [Internet]. 1 janv 2005 [cité 8 janv 2024];33(6). Disponible sur: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/JPM.2005.100/html>
37. Mélica, G. ; Scerra, S. ; Lelièvre, J.-D.; Morinet, F. ; Pillet, S. (2011). Parvovirus B19. *EMC - Maladies infectieuses*, 8(3), 1–6.
38. Organisation Mondiale de la Santé. « Système de gestion de la qualité au laboratoire: manuel. » (2013). [Internet]. [cité 13 févr 2024]. Disponible sur: [https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/97643/9789242548273\\_fre.pdf](https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/97643/9789242548273_fre.pdf)
39. Exigences pour l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189 : 2022SH-REF-02-(2022).pdf [Internet]. [cité 19 févr 2024]. Disponible sur: [https://tools.cofrac.fr/documentation/SH-REF-02-\(2022\)](https://tools.cofrac.fr/documentation/SH-REF-02-(2022))
40. Diagramme des 5M (ou diagramme Causes - Effets ou diagramme Ishikawa) : principe et exemple concret [Internet]. *La Qualité au Carré.* 2022 [cité 27 févr 2024]. Disponible sur: <https://la-qualite-au-carre.com/diagramme-5m/>
41. [appvizer.fr](http://appvizer.fr) [Internet]. [cité 21 juill 2024]. Les 5M, ou diagramme d'Ishikawa.

Disponible sur: <https://www.appvizer.fr/magazine/operations/gestion-de-projet/5-m-une-gestion-de-projet-sans-problemes>

42. La roue de deming ou méthode PDCA : définition et étapes [Internet]. 2018 [cité 27 févr 2024]. Disponible sur: <https://www.supplychaininfo.eu/la-roue-de-deming/>
43. Qu'est-ce que la roue de Deming ? Comment l'utiliser ? [Internet]. [cité 27 févr 2024]. Disponible sur: <https://www.leblogdudirigeant.com/la-roue-de-deming/>
44. SH-GTA-04- Révision 2- Guide technique d'accréditation de vérification (portée A) / validation (portée B) des méthodes de Biologie médicalepdf [Internet]. [cité 19 févr 2024]. Disponible sur: <https://tools.cofrac.fr/documentation/sh-gta-04>
45. SH-FORM-43- Fiche type de vérification (portée A) / validation (portée B) d'une méthode de biologie médicale.pdf.
46. LIAISON® XL | Advanced Immunodiagnostic Testing Tools | Diasorin [Internet]. [cité 17 avr 2024]. Disponible sur: <https://int.diasorin.com/en/immunodiagnosics/tools/liaison-xl>
47. 14: Le test ELISA - BiOutils [Internet]. [cité 27 mars 2024]. Disponible sur: <https://www.bioutils.ch/protocoles/14-le-test-elisa>
48. SH-GTA-06.pdf [Internet]. [cité 9 avr 2024]. Disponible sur: <https://tools.cofrac.fr/documentation/SH-GTA-06>
49. Cohen J. A Coefficient of Agreement for Nominal Scales. *Educ Psychol Meas.* avr 1960;20(1):37-46.
50. SH-GTA-04 Révision 1.pdf [Internet]. [cité 29 avr 2024]. Disponible sur: [https://www.inspq.qc.ca/sites/default/files/lspq/forums/Documents/Nouveaux\\_PDF/24\\_Avril/cofrac\\_sh-gta-04.pdf](https://www.inspq.qc.ca/sites/default/files/lspq/forums/Documents/Nouveaux_PDF/24_Avril/cofrac_sh-gta-04.pdf)
51. Santé Publique France, Epidémie d'infections à Parvovirus B19 en France. Point au 22 avril 2024..pdf.
52. Santé Publique France, Epidémie d'infections à Parvovirus B19 en France. Point au 28 juin 2024..pdf.
53. Tate J, Ward G. Interferences in Immunoassay. *Clin Biochem Rev.* mai 2004;25(2):105-20.
54. Fiche Technique-hemolyse-ictère-lipemie. Marie-Laurence Cartier et.al, CSCQ, Juin 2021. [Internet]. [cité 29 juill 2024]. Disponible sur: [https://www.cscq.ch/SiteCSCQ/FichierPDF\\_FR/FT-Ech-hemolyse-lipemique-ictrique.pdf](https://www.cscq.ch/SiteCSCQ/FichierPDF_FR/FT-Ech-hemolyse-lipemique-ictrique.pdf)
55. Vassault A, Grafmeyer D, de Graeve J, Beaudonnet A, Bienvenu J, Cohen R. *Annales de Biologie Clinique.* Vol. 57. 1999.

Université de Lille  
UFR3S-Pharmacie  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire 2024/2025

**Nom** : Rabache  
**Prénom** : Charlotte

**Titre de la thèse** : Vérification de méthode en sérologie. Étude approfondie des interférences dans le cadre du parvovirus B19.

**Mots-clés** : Parvovirus B19, sérologie, qualité, dossier de vérification de méthode

---

**Résumé :**

Le parvovirus B19 est un virus à ADN de la famille des *Parvoviridae*, dont la transmission interhumaine s'effectue par contact avec les gouttelettes respiratoires infectées, par voie transplacentaire ou sanguine. Chez les immunocompétents, l'infection est asymptomatique ou se manifeste par des symptômes légers, tels qu'un syndrome pseudo-grippal ou des éruptions cutanées. Cependant, ce virus peut provoquer des complications plus graves, notamment chez les femmes enceintes, les individus immunodéprimés et les patients atteints d'anémie hémolytique chronique. Son diagnostic repose sur la sérologie ou la détection de son génome PCR, en association avec les arguments cliniques. Ce travail a eu pour objectif l'élaboration d'un dossier de vérification de méthode pour la sérologie du parvovirus B19, suite à un changement de réactif du fournisseur Diasorin, ainsi qu'à l'étude d'interférences pouvant être à l'origine d'un résultat erroné compromettant la prise en charge du patient.

**Membres du jury :**

**Présidente** : Madame le Professeur Anne GOFFARD, PU-PH, Faculté de Pharmacie de Lille

**Assesseurs** : Monsieur le Docteur Benjamin DECKMYN, MCU-PH, GHICL

Madame le Docteur Mouna LAZREK, PH, CHU de Lille

Madame le Docteur Pauline COULON, PH, CHU de Lille