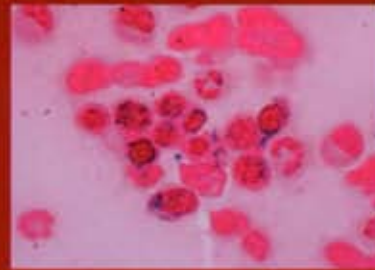
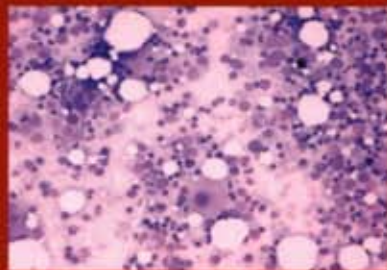


# Revue Tunisienne de **BIOLOGIE CLINIQUE**

المجلة التونسية للبيولوجيا السريرية

**2016 - Volume 23, n°1**

*Organe de la Société Tunisienne de Biologie Clinique*



## **Editorial**

**Surveillance de la rubéole en cours de grossesse en Tunisie : Entre les recommandations et la pratique.**

*Aida Elargoubi, Hajer Attia, Salma Mhalla, Amel Rhim, Maha Mastouri*

**Management de la qualité de la phase pré-analytique (PPA) en microbiologie.**

*Aida Elargoubi, Maha Mastouri, Mohamed Fadhel Najjar*

**Première étude du marqueur polymorphe MP6D9 chez une population d'enfants mucoviscidosiques.**

*Chaïma Sahli, Sondess Hadj Fredj, Taïeb Messaoud*

**Le syndrome 5q- : Expérience de l'hôpital Farhat Hached de Sousse**

*Néjia Braham-Jmili, Linda Khefacha, Yosra Ben Youssef, Ibtihel Ellouze,  
Halima Sendi Sennana, Monder Kortas.*

**Le test de génération de thrombine : un test global d'exploration des états d'hypercoagulabilité**

*Mouna Sassi, Taher Chakroun, Mohsen Hassine, Hamouda Babba*

**[www.stbc.org.tn](http://www.stbc.org.tn)**

## SOMMAIRE

## Bureau Exécutif de la STBC

**Président** : Pr. Hmida Slama  
**1er Vice-président** : Pr. Taieb Messaoud  
**2ème Vice-président** : Pr. Farouk Barguellil  
**Secrétaire Général** : Dr. Fethy Ben Hassine  
**Secrétaire Général adjoint** : Pr. Ag Asma Ghariani  
**Secrétaire Général adjoint** : Pr. Férièle Messadi  
**Trésorier** : Dr. Naoufel Nabli  
**Trésorier adjoint** : Pr. Ag Manel Chaabane  
**Archiviste** : Dr. Khalil Ben Abdallah

## Comité de rédaction

**Rédacteur en chef**  
 MC. Ben Rayana

## Attachés à la rédaction :

E. Chaker  
 F. Barguellil  
 L. Slim Saidi  
 S. Besbes  
 N. Nabli  
 Z.Aouni  
 Y. Galai  
 A. Ghariani  
 A. Chaabane  
 S. Mahjoub

**Editorial** ..... 3

**Surveillance de la rubéole en cours de grossesse en Tunisie : Entre les recommandations et la pratique**..... 7  
*Aida Elargoubi, Hajer Attia, Salma Mhalla , Amel Rhim, Maha Mastouri*

**Management de la qualité de la phase pré-analytique (PPA) en microbiologie**..... 16  
*Aida Elargoubi, Maha Mastouri, Mohamed Fadhel Najjar*

**Première étude du marqueur polymorphe MP6D9 chez une population d'enfants muco-viscidosiques**..... 24  
*Chaïma Sahli, Sondess Hadj Fredj, Taïeb Messaoud*

**Le syndrome 5q- : Expérience de l'hôpital Farhat Hached de Sousse**..... 30  
*Néjia Braham-Jmili, Linda Khefacha, Yosra Ben Youssef, Ibtihel Ellouze, Halima Sendi Sennana, Monder Kortas.*

**Le test de génération de thrombine : un test global d'exploration des états d'hypercoagulabilité**..... 43  
*Mouna Sassi, Taher Chakroun, Mohsen Hassine, Hamouda Babba*

## EDITORIAL

### Actualités thérapeutiques dans la prise en charge des hépatites C chroniques

L'hépatite virale C constitue au niveau mondial un problème de santé publique, et représente le type même de l'épidémie « silencieuse » que le dépistage et les thérapeutiques antivirales tentent de contrôler, surtout en l'absence de vaccin jusqu'à ce jour. En effet, bien que l'hépatite aiguë C passe habituellement inaperçue, celle-ci évolue dans la plupart des cas de manière insidieuse vers une infection chronique dont l'évolution se fait vers la fibrose, la cirrhose puis le carcinome hépatocellulaire (CHC). Il est estimé que 3% de la population mondiale, soit près de 200 millions de personnes, présentent une infection chronique par le virus de l'hépatite C (VHC). En Tunisie, malgré une séroprévalence moyenne relativement faible (0.87% selon les dernières estimations), la fréquence très élevée de l'infection par le VHC au cours de la cirrhose (23%) et du CHC (19%) témoigne de l'importance de cette infection dans notre pays.

Contrairement à d'autres infections virales chroniques (infections à VHB ou à VIH), l'infection chronique par le VHC est curable. En effet, à aucun moment de son cycle de multiplication, le VHC n'est capable de synthétiser de l'ADN, susceptible de s'intégrer dans le génome de l'hôte. De plus, tous les sites de réplication sont accessibles aux traitements. Le but du traitement est donc d'obtenir une inhibition rapide et persistante de la réplication virale pendant une durée suffisamment longue pour permettre l'éradication du virus sans rechute, cette éradication s'accompagnant d'une amélioration des lésions histologiques du foie. A l'issue du traitement, la réponse virologique soutenue (RVS), synonyme d'éradication virale, est définie par l'indélectabilité de l'ARN du VHC 24 semaines après la fin du traitement.

Le traitement utilisé depuis une dizaine d'années repose sur une bithérapie associant l'interféron pégylé à la ribavirine pendant une durée de 24 à 72 semaines. Malheureusement, ce traitement reste d'efficacité très insuffisante (environ 40% de RVS) vis-à-vis des VHC de génotype 1, génotype le plus répandu notamment en Tunisie.

Actuellement, le traitement de l'hépatite chronique C est en plein bouleversement, avec une autorisation de mise sur le marché (AMM) récente de plusieurs nouveaux antiviraux dans un grand nombre de pays industrialisés. Ces antiviraux sont pour la plupart des antiviraux à action directe sur le VHC : nouveaux inhibiteurs de la protéase NS3-4A (bocéprévir, télaprévir, siméprévir...), inhibiteurs nucléosidiques ou nucléotidiques de la polymérase NS5B (sofosbuvir, dasabuvir,...), inhibiteurs non nucléosidiques de la polymérase NS5B (lomibuvir, ...), inhibiteurs de la phosphoprotéine NS5A du VHC (daclatasvir, ledipasvir, ...). Plusieurs dizaines de nouveaux antiviraux directs sont encore en cours de développement. De plus, des antiviraux dirigés contre l'hôte, agissant sur des composés cellulaires intervenant dans le cycle du VHC, sont également en phases plus ou moins avancées de mise au point (inhibiteurs de la ciclophiline, antagoniste du microARN 122). Ainsi, de nouvelles thérapeutiques sont actuellement disponibles. Ces nouveaux protocoles thérapeutiques, souvent « interféron-free », ont fait preuve d'une efficacité proche des 100% selon les études publiées, avec une activité pan-génotypique (incluant, donc, le génotype 1), une barrière génétique de résistance élevée (d'où moins de résistances croisées), une durée de traitement raccourcie (12 semaines au lieu des 24 à 72 semaines jusqu'ici nécessaires), un meilleur profil de tolérance (donc moins d'effets indésirables lourds), et une incontestable simplification du schéma d'administration, puisqu'une unique prise orale quotidienne pourrait suffire alors qu'une injection hebdomadaire d'interféron pégylé était jusque-là indispensable, surajoutée aux prises orales journalières de ribavirine.

Notre pays, conscient du problème sanitaire représenté par les hépatites virales C, s'est mobilisé très tôt pour les combattre, par des actions conjointes et soutenues des autorités de tutelle et de l'ensemble des professionnels concernés. Depuis peu, de nombreux antiviraux à action directe ont obtenu l'AMM pour le traitement de l'hépatite C en Tunisie.

Ainsi, nul doute que cet éditorial arrive au bon moment. Il s'inscrit à un tournant de l'histoire des hépatites C, marqué par des progrès spectaculaires qui permettent de guérir l'infection à VHC chez la majorité des patients traités. En effet, avec des thérapeutiques dont l'efficacité est désormais proche de 100%, l'éradication de l'infection virale C pourrait bien devenir un objectif réaliste. En l'absence de vaccin, cette éradication passerait par l'identification et la prise en charge de tous les patients infectés, ce qui impliquerait nécessairement des coûts de médicaments réduits, sans doute un ambitieux défi pour nos collègues de l'industrie pharmaceutique. Ces réflexions sont celles d'un professionnel de la santé qui s'exprime dans un pays certes affecté par des problèmes économiques incontestables, mais dans lequel les conditions de prise en charge de la population ont depuis toujours constitué une priorité majeure.

**Pr Imène FODHA**

*Professeur hospitalo-universitaire en Microbiologie  
Laboratoire de Bactériologie-Virologie du CHU Sahloul, Sousse*

## ARTICLE ORIGINAL

# Surveillance de la rubéole en cours de grossesse en Tunisie : Entre les recommandations et la pratique.

## Rubella surveillance during pregnancy in Tunisia : between recommendations and practice

Aida Elargoubi (1),  
Hajer Attia (1),  
Salma Mhalla (1),  
Amel Rhim (2),  
Maha Mastouri (1)

- (1) Laboratoire de microbiologie.  
CHU Fattouma Bourguiba.  
Monastir. Tunisie.  
(2) Laboratoire régional  
d'hygiène. Sahline. Monastir.  
Tunisie

### Résumé

Notre objectif est d'évaluer la démarche de suivi de la rubéole durant la grossesse tout en établissant l'écart entre les recommandations nationales et notre pratique.

**Matériels et méthodes :** Nous avons analysé rétrospectivement tous les sérums reçus pendant l'année 2012 chez des femmes enceintes pour un dépistage de la rubéole. La Sérologie (IgM et IgG) a été effectuée par une technique micro-particulaire couplée à la chimiluminescence (ARCHITECT-ABBOT). L'indice d'avidité a été déterminé par technique ELISA (Euro-Immun) sur tous les sérums ayant présenté des IgM et des IgG positives.

**Résultats :** Notre population a compris 3893 femmes âgées de 28 ans en moyenne. L'étude montre une immunité ancienne et une absence de contact respectivement chez 90 et 8,8% des femmes. Près de 80% des femmes non immunisées avaient un âge supérieur à 25 ans. Plus que 60 % des demandes étaient envoyées à un terme supérieur à 12 SA et un contrôle sérologique n'a été réalisé que chez 6,4% des femmes non immunisées. Vingt-deux patientes ont présenté un profil sérologique en faveur d'une primo-infection (7-18 SA) et un indice d'avidité faible dans 6% des cas. Une séroconversion rubéolique a été confirmée dans un seul cas.

**Conclusion :** Notre étude révèle que le suivi de la rubéole au cours de la grossesse n'est pas correctement conduit. Une révision des recommandations nationales ainsi que des mesures de sensibilisation s'avèrent indispensables.

**Mots clés :** Rubéole, grossesse, surveillance, recommandations, vaccination...

### Abstract

Our study aims to evaluate the rubella surveillance strategy during pregnancy and to evaluate the gap between national recommendations and our practice.

**Methods :** It's about all sera withdrawn in pregnant women and screened for rubella during 2012. Rubella Serology (IgM and IgG) was conducted by a micro-particular assay with a chimi Flex technology (ARCHITECT-ABBOT). Avidity index was realized by ELISA (Euro-Immun) in every serum presenting both IgM and IgG.

**Results :** Our study included 3893 women with an age average of 28 years (16-46). An old immunity and an absence of contact were noted respectively in 90 and 8.8%. Almost 80% of non-immunized women were aged over 25 years. More than 60% of tests were done at a stage superior to 12 week of amenorrhea and serology was controlled in only 6.4% of non immunized women. Serology was determined in a stage inferior to 8 week of amenorrhea in only 12 % of immunized women. Twenty Two patients exhibited a primary infection profile (stage between 8 and 18 week of amenorrhea). Avidity index was low in 6 % of cases. A sero-conversion was confirmed in one case.

**Conclusion:** Our study shows that rubella surveillance during pregnancy is still not well assured.

A review of national recommendations and measures of sensibilization are indispensable.

**Key words :** Rubella, pregnancy, surveillance, recommendations, vaccination...



## INTRODUCTION

La rubéole est une infection commune de l'enfance. Toute la gravité de cette maladie tient du risque de contamination pendant les vingt premières semaines de grossesse d'où alors l'obligation d'une politique instituant à la fois des mesures de dépistage et de vaccination [1-5].

En Tunisie, en dépit des efforts déployés, de l'élaboration d'un guide national portant sur la consultation prénuptiale et les modalités de surveillance de la femme en période pré-conceptionnelle et en cours de grossesse et l'intégration du vaccin de la rubéole dans le calendrier vaccinal national depuis 2005, le risque du syndrome rubéoleux congénital continue d'exister [6-10].

Nous nous proposons dans ce travail, de tracer le profil séro-épidémiologique, d'évaluer la démarche de suivi de la rubéole chez une population de femmes enceintes dans une région du centre tunisien (gouvernorat de Monastir). Nous allons essayer également d'établir une lecture critique des recommandations du guide national sur la surveillance de la rubéole en cours de grossesse et d'établir l'écart entre ces prescriptions et la pratique.

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

Il s'agit d'une étude rétrospective, qui a porté sur tous les sérums parvenus au laboratoire de microbiologie du CHU Fattouma Bourguiba Monastir et prélevés chez des femmes enceintes en vue d'une sérologie de la rubéole pendant l'année 2012.

Durant cette période, 3893 sérums ont été analysés. La détection des IgM et des IgG spécifiques du virus de la rubéole a été effectuée par une technique immunologique microparticulaire par chimiluminescence (Rubella IgM et IgG CMIA Architect-Abbot). Trois profils sérologiques ont été catégorisés dans l'étude :

- Absence d'immunisation ou de contact : IgM et IgG négatives.
- Immunisation ancienne : IgM négatives et IgG positives.
- Suspicion d'infection évolutive (Primo-infection ou réinfection) : IgM positives ou douteuses et IgG positives.

L'indice d'avidité a été déterminé chez toutes les patientes ayant présenté un profil évoquant une infection évolutive (IgM positives ou douteuses et IgG positives avec un titre supérieur à 50 UI/mL) par technique ELISA (Avidity : Anti-Rubella Virus Elisa IgG EuroImmuno Allemagne). Toutes les données concernant l'âge, l'origine géographique, le terme, la parité et les valeurs d'IgM et IgG ont été recueillies à partir des archives du laboratoire. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel SPSS version 17.0.1.

## RÉSULTATS

Trois mille huit cent quatre vingt treize sérums ont été analysés. Les données sur l'âge et le terme étaient mentionnées lors de la demande de sérologie respectivement pour 2432 et 2804 patientes. La parité n'était mentionnée que rarement, elle n'a donc pas été prise en compte. Aucune indication sur le statut vaccinal n'a été fournie lors de la demande et une notion d'éruption n'a été enregistrée que dans un seul cas.

### 1-Répartition selon le profil sérologique

Près de Quatre-vingt-dix pourcent (3529) de notre population ont présenté un profil sérologique en faveur d'une immunisation ancienne. Une suspicion d'une infection évolutive (primo-infection ou réinfection) a été enregistrée dans 0,5 % des cas (22) et une absence de contact avec le virus chez 8,8% des femmes (342).

### 2-Répartition en fonction de l'âge et du profil sérologique

Notre population compte des femmes âgées de 28 ans en moyenne avec des extrêmes allant de 16 à 46 ans. Plus de 66% des patientes immunisées ont un âge compris entre 20 et 30 ans. Quatre vingt pourcent de la population non immunisée ont un âge supérieur à 25ans (Figure 1)

### 3- Bilan du suivi en fonction du profil et du terme

#### 3-1 Population non immunisée

Le terme moyen de grossesse chez les femmes non immunes lors de l'examen sérologique est de 14 SA avec des extrêmes allant de 5 à 32 SA. Plus que 60 % des demandes sont envoyées à un terme supérieur à 12 SA (Figure 2). Un contrôle sérologique a été réalisé chez uni-

quement 6,4% (22/342) des femmes séronégatives. Plus que la moitié des sérologies de contrôle ont été effectuées à un terme supérieur à 18 SA (Figure 3).

Le suivi a montré une sérologie négative chez toutes les femmes contrôlées à l'exception d'un cas de séroconversion chez une patiente de 25 ans, chez laquelle une sérologie rubéole était négative à 18 SA. Une sérologie réalisée à 24 SA a montré des IgM et des IgG positives. Le test d'avidité réalisé sur le même sérum était à 7% confirmant alors une infection très récente au virus de la rubéole (< 1 mois).

**4-2 Population immunisée**

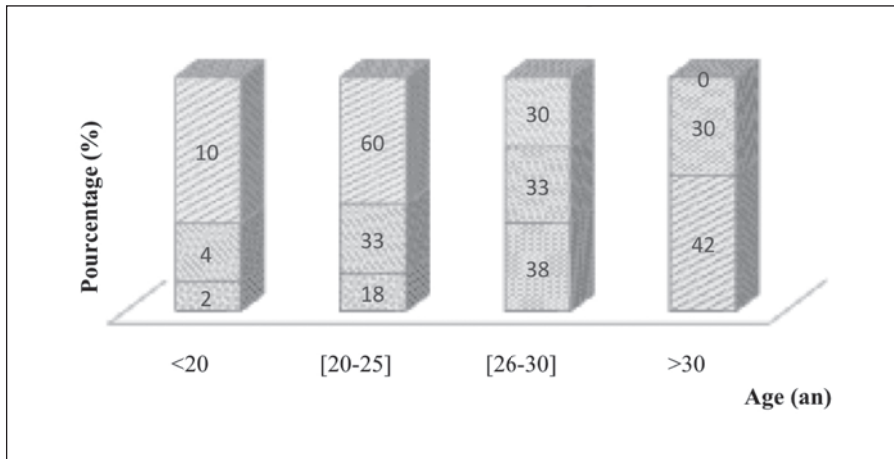
Quatre vingt dix pour cent des patientes (3529/ 3893) ont déjà été en contact avec le virus de la rubéole et ayant des anticorps IgG anti-rubéole isolées. La moyenne d'âge est

de 27 ans avec des extrêmes allant de 16 à 46 ans. Quatre vingt seize pourcent des femmes immunisées ont un âge supérieur à 20 ans (Figure 1).

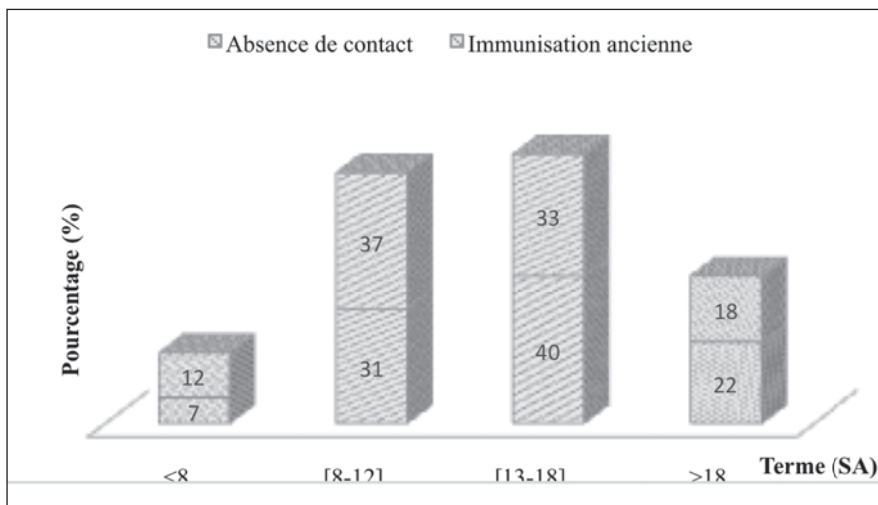
Le terme moyen au moment du prélèvement est de 13 SA avec des extrêmes allant de 4 à 40 SA. La sérologie a été déterminée à un terme inférieur à 8 SA chez uniquement 12% des femmes immunisées (Figure 2). Soixante douze femmes déjà étiquetées immunisées sont revenues pour un contrôle sérologique (Figure 3).

**4-3 Population avec un profil sérologique évoquant une infection évolutive (Primo-infection ou ré-infection)**

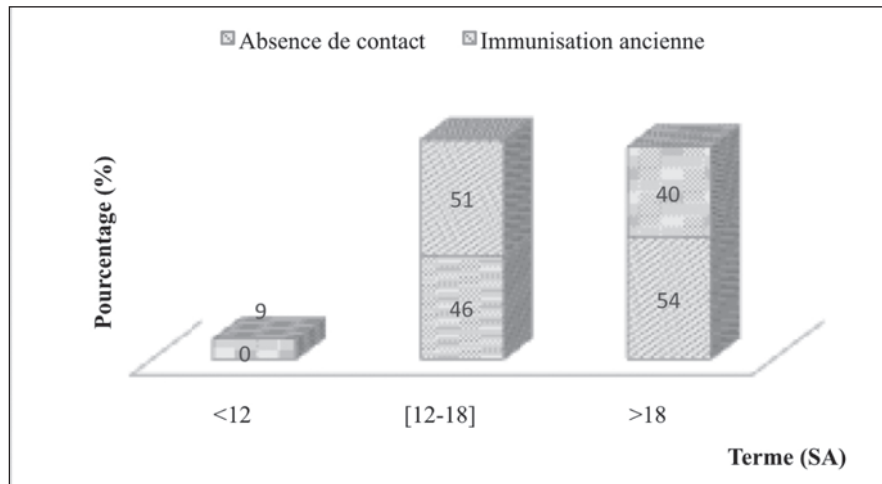
Uniquement vingt deux patientes ont présenté un profil avec des IgM positives ou douteuses et des IgG positives. La moyenne d'âge est de 23 ans avec des extrêmes allant



**Fig 1 : Répartition des femmes enceintes en fonction de l'âge et du profil sérologique**



**Fig 2 : Répartition des femmes selon le terme au moment de la première sérologie (à l'exception des femmes chez qui une infection évolutive a été évoquée)**



**Fig 3 : Répartition des femmes selon le terme lors de la sérologie de contrôle (à l'exception des femmes chez qui une infection évolutive a été évoquée)**

de 19 à 27 ans (n=20) (Figure 1). Le terme moyen au moment du prélèvement est de 11 SA avec des extrêmes allant de 7 à 18 SA. Toutes ces patientes ont bénéficié

d'une détermination de l'indice d'avidité dont les résultats sont récapitulés dans le tableau 1.

**Tableau 1 : Données des patientes avec un profil sérologique évoquant une infection évolutive**

|              | Sérologie            |                         | Avidité                                 |
|--------------|----------------------|-------------------------|---|
|              | IgG/ IgM             | Terme de grossesse (SA) |   |
| Patiente 1   | IgG+ / IgM douteuses | 14                      | Avidité = 70,5% (Infection > 2 mois)    |
| Patiente 2   | IgG+ / IgM +         | DM                      | Avidité = 62% Infection > 2 mois        |
| Patiente 3   | IgG+ / IgM +         | DM                      | Avidité = 68% Infection > 2 mois        |
| Patiente 4   | IgG+ / IgM douteuses | 14                      | Avidité = 70% Infection > 2 mois        |
| Patiente 5   | IgG+ / IgM +         | 12                      | Avidité = 73% Infection > 2 mois        |
| Patiente 6   | IgG+ / IgM douteuses | 9                       | Avidité = 77% Infection > 2 mois        |
| Patiente 7   | IgG+ / IgM douteuses | DM                      | Avidité = 94,8% Infection > 2 mois      |
| Patiente 8   | IgG+ / IgM douteuses | DM                      | Avidité = 80% Infection > 2 mois        |
| Patiente 9   | IgG+ / IgM +         | DM                      | Avidité = 89,57% Infection > 2 mois     |
| Patiente 10  | IgG+ / IgM douteuses | 12                      | Avidité = 51% Notion d'éruption fébrile |
| Patiente 11  | IgG+ / IgM +         | 7                       | Avidité = 81% Infection > 2 mois        |
| Patiente 12  | IgG+ / IgM +         | DM                      | Avidité = 86% Infection > 2 mois        |
| Patiente 13  | IgG+ / IgM +         | DM                      | Avidité = 84% Infection > 2 mois        |
| Patiente 14  | IgG+ / IgM douteuses | 7                       | Avidité = 86% Infection > 3 mois        |
| Patiente 15  | IgG+ / IgM douteuses | 14                      | Avidité = 68% Infection > 2 mois        |
| Patiente 16  | IgG+ / IgM douteuses | 10                      | Avidité = 70% Infection > 2 mois        |
| Patiente 17  | IgG+ / IgM +         | 9                       | Avidité= 88% Infection > 2 mois         |
| Patiente 18  | IgG+ / IgM+          | 10                      | Avidité= 69% Infection > 2 mois         |
| Patiente 19  | IgG+ / IgM douteuses | 18                      | Avidité= 71,2% Infection > 2 mois       |
| Patiente 20  | IgG+ / IgM douteuses | 15                      | Avidité= 75% Infection > 2 mois         |
| Patiente 21  | IgG+ / IgM douteuses | 9                       | Avidité = 74,4% Infection > 2 mois      |
| Patientes 22 | IgG+ / IgM +         | DM                      | Avidité = 75% Infection > 2 mois        |

**DM : données manquantes**

L'analyse des indices d'avidité montre que les taux se situent pour la majorité des patientes dans la zone supérieure à 60% ce qui correspond à des avidités fortes. Une seule patiente a présenté une avidité équivoque.

Uniquement trois patientes sont revenues pour des contrôles. Aucune évolution dans la cinétique sur les prélèvements de contrôle (4 semaines d'intervalle) n'a été notée chez les 3 patientes (Tableau 2).

## DISCUSSION

Dans le cadre de dépistage et de prévention de maladies sexuellement transmissibles, un guide national de pré-nuptialité a été élaboré par un groupe de médecins et diffusé par la direction de soins et de santé de base. Outre les recommandations sur le certificat de pré-nuptialité instauré par la Loi n° 1964-0046 du 3 novembre 1964, le guide précise l'intérêt des différentes consultations dans la prévention de certaines affections graves pendant la

grossesse et pouvant être transmises à la descendance comme la rubéole ou la toxoplasmose ainsi que les modalités de surveillance de ces affections [6,7].

La rubéole est particulièrement grave chez la femme enceinte quand la primo-infection survient pendant les 20 premières semaines de grossesse. Le dépistage se base sur la détermination du statut immunitaire de la patiente et a pour objectifs d'orienter les femmes séronégatives vers la vaccination en postpartum et d'autre part de faire, le cas échéant, le diagnostic d'une primo-infection rubéolique [7,11].

### 1-Points forts du guide

Le guide est un grand acquis en matière de santé publique. Il constitue un référentiel pour les sages-femmes, gynécologues et biologistes en termes de démarche sérologique, interprétations et conduite à tenir devant les différentes situations pratiques.

Plusieurs éléments sont clairs dans le guide tunisien et

**Tableau 2 : Bilan de contrôle sérologique des 3 patientes**

| <b>Patiente 5</b>  | <b>IgG (UI/mL)*<br/>Ig M (index)<br/>Avidité (%)</b> | <b>12 SA</b>       | <b>16 SA</b> |
|--------------------|--|--------------------|--------------|
|                    | IgG<br>IgM<br>Avidité                                | 235<br>1,6<br>72   | 300<br>1,3   |
| <b>Patiente 10</b> |  | <b>12 SA</b>       | <b>16 SA</b> |
|                    | IgG<br>IgM<br>Avidité                                | 125<br>1,45<br>51  | 105<br>1,35  |
| <b>Patiente 21</b> |  | <b>9 SA</b>        | <b>13 SA</b> |
|                    | IgG<br>IgM<br>Avidité                                | 184<br>1,5<br>74,4 | 170<br>1,45  |

\*Seuil : IgG : 10 UI/mL,

IgM (index) : Positif  $\geq 1,6$  Douteux : [1,4 -1,6] négatif  $< 1,4$



suivent les mêmes recommandations françaises en ce qui concerne l'obligation du dépistage sérologique chez toutes les femmes en début de grossesse surtout en l'absence d'informations sûres concernant les antécédents (de maladie ou de vaccination) ainsi que l'intérêt de la vaccination des fillettes et des femmes non immunisées avant la conception.

## 2-Points faibles du guide

Les recommandations de la Haute autorité de santé (HAS) en France relatives à la surveillance de la rubéole en cours de grossesse sont bien codifiées. Le texte français stipule de réaliser une sérologie rubéole pendant la première consultation prénatale. Ces recommandations concernent les femmes asymptomatiques, consultant dans le cadre de suivi de grossesse et en dehors de toute notion de contagion ou de signes cliniques évocateurs. Les modalités se résument à une seule détermination des IgG. La présence des anticorps permet de considérer l'immunité comme acquise compte tenu de la faible incidence des infections rubéoliques en cours de grossesse et la faible probabilité que les IgG détectées lors de la première sérologie soient le témoin d'une primo-infection en début de grossesse. Chez les femmes séronégatives, une deuxième sérologie sera effectuée vers la 20ème SA afin de déceler une éventuelle séro-conversion à une période à risque pour le fœtus.

Quant à la recherche des IgM spécifiques, elle reste réservée à la démarche diagnostique, dans le cadre de contagion ou de signes cliniques évocateurs [3, 11].

Quand au guide tunisien, certains éléments ne sont pas bien codifiés concernant la démarche sérologique, les interprétations et la prise en charge de ces patientes conduisant des fois à des aberrations. Le suivi de la femme enceinte, selon notre guide, se fait par une détermination des IgG spécifiques qui seront contrôlées en cas de positivité 15 jours après ou chaque mois en cas de séronégativité. Cependant, nous avons remarqué à partir de notre pratique, qu'il existe des insuffisances aussi bien dans le rythme de suivi que de l'interprétation des sérologies...

La pratique d'une sérologie incluant aussi bien les IgM que les IgG nous a permis d'avoir une idée plus claire sur la prévalence des anticorps spécifiques dans notre population. Notre étude relève qu'uniquement 8,8% de

femmes sont séronégatives, chiffre plus bas en comparaison avec d'autres études tunisiennes [8].

Notre étude nous renseigne également sur le rythme de suivi de nos femmes enceintes et l'attitude des prescripteurs en ce qui concerne les recommandations nationales et celles mentionnées sur le compte rendu final de chaque résultat délivré par notre service. Pour la majorité des femmes, quelque soit le statut, le dépistage est effectué tardivement dans la grossesse allant jusqu'à un terme de 40 SA et le contrôle d'une sérologie négative n'est pas toujours bien assuré (absence de contrôle ou un contrôle tardif > 20 SA) quand certaines sérologies ont été prescrites dans des situations ne nécessitant pas de contrôle malgré nos commentaires sur le compte rendu du résultat.

L'absence de renseignement sur le terme, les sérologies antérieures, la vaccination... a compliqué l'interprétation des sérologies surtout celles montrant des IgM positives. La majorité des prescripteurs omettent de les signaler. Les recommandations nationales ne précisent pas dans le guide l'intérêt de tels renseignements aussi bien pour l'interprétation des résultats que pour la démarche de suivi et de prise en charge comme il omet de préciser que la sérologie rubéole après 20 SA n'a plus d'intérêt puisque le risque de tératogénicité est nul au-delà de 18SA [5, 11-13].

Selon le guide, le dépistage se fait par une détermination isolée des IgG spécifiques et ceci quelque soit le terme. Il considère, sans aucune précision sur le type de la technique utilisée, que l'immunité est résiduelle devant un titre en IgG supérieur au seuil et inférieur à 1/20. Ceci peut conduire à des interprétations erronées. La présence d'IgG ne signifie pas obligatoirement une infection anté-conceptionnelle puisque tout dépend du terme de grossesse au moment du prélèvement et de la réponse en IgM et de l'épidémiologie de notre pays qui connaît encore des épidémies de rubéole. En 2011 et 2012, 280 cas de primo-infections rubéoleuses ont été recensés dans la seule région de Sfax [14-17].

En suivant la cinétique des anticorps, on s'aperçoit que les IgG détectées, au moment de l'éruption ou quelques jours après atteignent un plateau en quelques jours à 3 semaines. Il existe une grande diversité des individus et des techniques en ce qui concerne le niveau du plateau ainsi que son délai d'atteinte. La décroissance de ces anti-

corps est très lente et imperceptible à deux tests successifs. Le niveau des anticorps résiduels varie lui aussi d'une personne à l'autre : proche du plateau de la phase aiguë ou du plancher (seuil de détection) ou en position intermédiaire, il n'y a donc pas de normes en matière de titre des anticorps rubéoliques et un titre élevé n'est pas pathognomonique d'une infection évolutive comme un titre bas n'exclut pas une primo-infection. Une ré-ascension en titre IgG peut être également rencontrée lors d'une réinfection ou d'une stimulation polyclonale [1,14,18].

Notre guide recommande un contrôle sérologique à un intervalle de 15 jours. Ce délai de 15 jours entre les deux prélèvements n'est pas suffisant pour déceler une évolution significative (une multiplication du titre par 2 en ELISA et 4 en IHA). Un titre stable sur deux prélèvements consécutifs n'exclut pas formellement une infection évolutive. Une comparaison valable des deux sérums implique un intervalle de 3 semaines à un mois entre les deux et leur titrage en parallèle au cours de la même manipulation [12,18].

Une autre aberration dans nos recommandations concerne l'interprétation de la présence des IgM qui selon le guide est synonyme d'une primo-infection. Plus grave que l'anxiété et l'angoisse générées chez la future maman à cause de cette interprétation, est la décision d'une interruption de la grossesse qui sera discutée selon le guide en fonction du terme de grossesse [14].

En dehors d'un contexte de séroconversion, les IgM peuvent être également présentes lors des réinfections et 6 mois à un an après une vaccination. Cependant la cause la plus fréquente de leur détection reste la stimulation polyclonale non spécifique du système immunitaire ou au décours d'autres infections virales (MNI, parvovirus B19). D'autant plus, les IgM rubéoliques ont lors d'une primo-infection une cinétique caractéristique : après augmentation caractéristique de leur concentration elles diminuent de façon significative à trois semaines d'intervalle. Contrairement à celles détectées hors primo-infection, leur concentration varie habituellement peu entre deux prélèvements successifs [1,12, 18].

Si des démarches comme la pratique systématique des

IgM et des tests comme l'étude de l'avidité des anticorps spécifiques semblent d'un grand intérêt, l'interprétation, pourtant reste délicate surtout devant une avidité intermédiaire [5, 12-14].

Il a été clairement établi que les IgG anti-rubéole murissent beaucoup plus rapidement que les IgG anti-CMV ou que les IgG anti-toxoplasmose. Ceci a des conséquences importantes et pour pouvoir interpréter le résultat d'avidité, il est important d'indiquer l'histoire clinique de la patiente.

Lorsque le résultat indique une faible avidité des anticorps IgG de la rubéole, cela signifie que la patiente a récemment contracté une infection primaire par le virus de la rubéole. Avec cette épreuve, une maturation de l'avidité de faible à intermédiaire à forte survient plus de 30 jours après exposition à l'infection par le virus de la rubéole. Ainsi il ne doit pas s'être écoulé plus de 30 jours entre la date d'exposition et la date de prélèvement du sérum pour interpréter le résultat de forte avidité comme une infection réelle passée et non une infection primaire. Enfin, si un faible indice d'avidité est corrélé, de façon formelle, à une primo-infection récente (1 à 2 mois), un indice relativement élevé ne permet pas de différencier une infection semi récente (>2-3 mois) d'une infection plus ancienne.

Le test d'avidité connaît d'autres limites. La mesure n'est possible que chez les patients immunocompétents. Par ailleurs l'avidité ne peut être mesurée si la concentration des IgG est trop faible (< 50 UI/mL pour notre test). Certains auteurs estiment que des mesures d'avidité effectuées sur des sérums ayant des concentrations d'IgG inférieures à 25 UI/mL, doivent être interprétées avec prudence.

Un autre facteur complique l'interprétation: la vaccination. Après vaccination, l'avidité mûrit plus lentement qu'après infection naturelle et se stabilise souvent à des niveaux d'indice moyen [15]. C'est ainsi que pour interpréter correctement un indice d'avidité, il est donc essentiel de savoir si la femme a été vaccinée et de connaître la date de la vaccination par rapport au prélèvement [11, 12, 18].

Le contrôle sérologique est recommandé surtout lorsque l'indice d'avidité est douteux et donc non concluant. Un intervalle de 3 semaines s'avère important pour déceler une évolution significative.

**Tableau 3: Démarche de dépistage de la rubéole en cours de grossesse selon notre expérience**

| Terme                                   | Paramètres      | Interprétation   |
|---|-----------------|--|
| ≤ 6 SA                                  | IgG spécifiques | IgG négatives : sérologie à contrôler à 20SA   |
|   |                 | IgG Positives—faire les IgM<br>IgM négatives : Immunité ancienne pré-conceptionnelle   |
| > 6 SA                                  | IgG spécifiques | IgG négatives : Sérologie négative à contrôler à 20 SA<br>IgG positives – Faire les IgM:<br>IgM négatives : Immunité datant de plus de 2 mois<br>IgM positives, IgG positives :<br>sérologie positive. A contrôler dans 3 semaines.<br>CAT :<br>-Demander les renseignements nécessaires : éruption, adénopathies, contage, vaccination.<br>-Test d’avidité sur le premier prélèvement |
| 20 SA contrôle d’une sérologie négative | IgG spécifiques | IgG négatives : sérologie négative.<br>La vaccination est vivement recommandée en post-partum  |
| Conduite en cas de séroconversion       | IgM et IgG      | Repasser les 2 sérums dans les mêmes conditions<br>IgM positives et IgG positives sur le 2ème prélèvement: profil sérologique en faveur d’une séroconversion rubéolique<br>Passer le test d’avidité pour dater l’infection.  |

**3-Notre démarche**

Au terme de ce travail et dans le contexte actuel et devant les difficultés d’assurer un suivi correct des femmes enceintes, nous pouvons proposer, aux biologistes de procéder pour la démarche sérologique comme suit dans le tableau 3.

**CONCLUSION**

Beaucoup d’efforts restent à déployer pour la surveillance de la rubéole chez les femmes enceintes dans notre pays. Celle-ci est encore mal maîtrisée et l’éventualité qu’une femme contracte la rubéole au cours de sa grossesse reste non négligeable. La détermination systématique des IgM et des IgG peut être d’un grand intérêt essentiellement en absence de renseignement sur le terme et peut éviter des contrôles injustifiés. Cependant, devant le manque de standardisation des techniques de dépistage, les difficultés d’interprétation des IgM et du test d’avidité et leurs coûts, d’autres mesures doivent être envisagées.

Il serait hautement souhaitable que la sérologie soit effectuée avant la grossesse. Ceci faciliterait nettement l’interprétation des résultats et la conduite à tenir : si les anticorps sont présents, on peut considérer que la femme est immunisée. Il est estimé que la protection dure la vie entière si l’immunité est acquise de façon naturelle et, au moins 20 ans si l’immunité est acquise par vaccination. Si les résultats de la sérologie sont équivoques ou si les anticorps sont absents, on doit considérer que la patiente n’est pas immunisée et proposer une vaccination, en dehors de toute grossesse.

Néanmoins, il faudra tenir compte du faible taux de visites prénuptiales et des difficultés sociales pour protéger les femmes au cours des deux premiers mois de mariage par une méthode contraceptive efficace.

Enfin, l’amélioration passe par une implication de spécialistes pour la révision du guide national, une prise de conscience de la part du prescripteur de l’intérêt de four-

nir au biologiste tous les renseignements nécessaires pour l'interprétation des résultats biologiques (terme, parité, antécédents, notion de vaccination, contagé, éruptions...) ainsi que par des mesures d'information et de sensibilisation auprès des femmes en âge de procréation.

## RÉFÉRENCES

1. Guillet M. Rubéole et grossesse : très rare et très grave. *Gynécologie pratique*. Publié en ligne le 22/11/2010. (<http://www.gynecologie-pratique.com/journal/article/rubeole-et-grossesse-tres-rare-et-tres-grave>) (accédé le 15/05/2016).
2. Haute autorité de santé (HAS). Comment mieux informer les femmes enceintes. Recommandations pour les professionnels de la santé. *Gynecol Obstet Fertil* 2005;33:926-948.
3. Judlin P, Thiebaugeorges O. La surveillance microbiologique de la femme enceinte: quels examens réaliser pendant la grossesse. *Gynecol Obstet Fertil* 2005;33:907-913.
4. Verhaeghe Y. Le calendrier de surveillance obligatoire de la grossesse. <http://formathon.fr/Formathon/278/le-calendrier-de-surveillance-de-la-grossesse> (accédé le 10/05/2016).
5. Pechere JC. Les infections virales dangereuses au cours de la grossesse. *Med Mal infect* 1987;11:651-656.
6. JORT. Loi no 64-46 du 03/11/1964. Portant institution d'un certificat prénuptial.
7. Direction des soins de santé de base du Ministère de la Santé Publique. Guide de la prénuptialité. <http://www.ordre-medecins.org.tn>. (accédé le 10/05/2016).
8. Chaabouni M, Messadi F, Fkih L, Zribi M, Hamma, i A, Karray H. Seroprévalence de la rubéole chez la femme en âge de procréer deux ans après l'introduction de la vaccination en Tunisie. *Pathol Biol*.2012;60:170-173.
9. Chabchoub I, Mejdoub I, Maalej B, Abid D, Aloulou H, Kamoun T et al. La rubéole congénitale existe encore en Tunisie. *Arch Pediatr* 2011;18: 1191-1195.
10. Merdassi A. Limaïem R, Turki F, Chaker Y, Falfoul F, Mghaieth N et al. Manifestations ophtalmologiques de la rubéole congénitale. *Arch Pediatr* 2011;18 :870-873.
11. Haute autorité de santé (HAS). Surveillance sérologique et prévention de la toxoplasmose et de la rubéole au cours de la grossesse 2009. [http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/200912/depistages\\_prenatals\\_obligatoires\\_synthese\\_vf.pdf](http://www.has-sante.fr/portail/upload/docs/application/pdf/200912/depistages_prenatals_obligatoires_synthese_vf.pdf) (accédé le 10/05/2016).
12. Grangeot. Keros L Huraux J.M. *Togaviridae-Rubivirus*. In *Traité de Virologie Médicale*. PARIS ESTEM 2003, 489-502.
13. Chaouat G, Moussa M, Maldonado J, Menu E. La barrière placentaire. *Rev Fr Lab* 2003;353:21-28.
14. Mendelson E, Aboudy Y, Smetana A, Tepperberg M, Grossman S. Laboratory assessment and diagnosis of congenital viral infectious: Rubella, cytomegalovirus (CMV), Varicella – Zoster (VZV) Herpes simplex virus (HSV), Parvovirus B19 and Human immunodeficiency virus (HIV). *Reprod Toxicol* 2006;21:350-382.
15. Grangeot. Keros L, Bouthry E, Vauloup-Fellous C. La rubéole une question d'actualité ? *Presse Med*. 2014 ; 43 : 698-705.
16. Jacquemard F. Syndrome infectieux fœtal. *EMC Pédiatrie* 2004;1:296-323.
17. Fki-Berrajeh, Gargouri S, Messedi E, Jalloul H, Mzid A, Bouaziz M et al. Etude d'une épidémie de rubéole inhabituellement prolongée entre 2011 et 2012 et caractérisée par un nombre élevé de formes sévères survenues à Sfax en Tunisie. *Virologie* 2013; (supp17 Résumé A 022)
18. Grangeot. Keros L. Les difficultés d'interprétation de la sérologie de la rubéole. *Rev Fr lab* 2005 ; 371:41-47.

## ARTICLE ORIGINAL

# Management de la qualité de la phase pré-analytique (PPA) en microbiologie.

## Quality management of pre-analytic phase (PPA) in microbiology.

Aida Elargoubi<sup>a</sup>,  
Maha Mastouri<sup>a</sup>,  
Mohamed Fadhel Najjar<sup>b</sup>

- (a) Laboratoire de Microbiologie  
(b) Laboratoire de Biochimie.  
Hôpital Universitaire  
"Fattouma Bourguiba".  
Monastir ,5000. Tunisie.

### Résumé

En microbiologie, et comme toutes les disciplines de biologie médicale, beaucoup d'efforts ont été consacrés ces dernières années à l'amélioration des performances analytiques et à la qualité de la prestation biologique. Néanmoins, la phase pré-analytique (PPA) reste la moins maîtrisée. La PPA est un processus complexe formé d'une série d'étapes qui se déroulent aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur de l'hôpital, et implique une multitude d'acteurs en dehors du laboratoire. La multiplicité des méthodes en microbiologie et la grande panoplie de prélèvements et du matériel utilisé, ainsi que des procédés de transport, constituent d'autres traits de complexité de cette phase. Les erreurs pré-analytiques sont fréquentes et peuvent entacher toutes les étapes, de la prescription au prétraitement du spécimen. Le management de la qualité de cette phase est sous l'entière responsabilité du biologiste. Il passe par l'élaboration de documents qualité pour assurer une harmonisation des pratiques et une meilleure traçabilité, par un programme de formation continue, une meilleure définition des tâches et par la gestion des non conformités. L'avènement d'un texte officiel en Tunisie, le guide de bonne pratique de laboratoire (GBPL) est un grand pas pour un management total de la qualité dans un pays où la démarche d'accréditation est encore volontaire. Il reste alors aux instances responsables de fournir les moyens et les ressources nécessaires à la mise en place de ce système de management de la qualité et en vérifier l'efficacité.

**Mots clés :** GBPL, étapes pré-analytiques, microbiologie, documents qualité, non conformités...

### Abstract

In Microbiology, and like all medical biology disciplines, many efforts have been devoted in recent years to improve analytical performance and quality of biological benefit. However, the pre-analytical phase remains the least controlled. Pre-analytical phase is a complex process consisting of a series of steps that take place both outside and inside the hospital, and involves a multitude of actors outside the laboratory. The multiplicity of methods in microbiology and the large range of samples and materials used, as well as transport processes, are other features of the complexity of this phase. Pre-analytical errors are common and can taint all stages of the prescription pretreatment specimen ... The quality management of this phase is the full responsibility of the biologist. It requires the development of quality materials to ensure the harmonization of practices and traceability, a continuing education program, a better definition of tasks and the management of non-conformities. The advent of an official text in Tunisia, the good laboratory practice guide (GLPG) is a very important step for the total quality management in a country where the accreditation process is still voluntary. It remains to the authorities to provide the means and resources to the implementation of the management system of quality and test their effectiveness.

**Keywords:** GLPG, preanalytical stages, microbiology, quality documents, non-conformities.



## INTRODUCTION

L'essor des concepts d'accréditation et d'amélioration continue place la qualité de la prestation au premier plan des occupations du biologiste. La France s'est engagée depuis une décennie dans une démarche d'accréditation de ses laboratoires. Cependant, le défi est encore lancé jusqu'au 30 octobre 2016, avec un objectif d'atteindre 50% de l'ensemble des examens de biologie médicale puis 70% en 2018 et 100% en 2020 [1]. Jusqu'à octobre 2011, sur 5000 laboratoires, uniquement 22 laboratoires ont été accrédités selon la norme ISO 15189 et 6 selon la norme ISO 17025 [2-5]. En Tunisie, seulement 18 laboratoires d'analyses (dont aucun laboratoire de biologie médicale) sont accrédités par le conseil national d'accréditation (TUNAC) jusqu'en mai 2016. L'accréditation est encore une démarche volontaire, mais une démarche réglementaire a été entamée et un arrêté est paru dans le journal officiel de la république tunisienne (JORT) du 12 mai 2011 fixant le guide de bonne pratique de laboratoire (GBPL) [6, 7]. En effet, le GBPL est une reprise de l'ensemble des règles de la norme ISO 15189 sur le bon fonctionnement d'un laboratoire de biologie médicale et du management de la qualité des différentes étapes d'une analyse biologique [8]. La qualité, au sein du processus biologique, commence par la phase pré-analytique (PPA), continue avec l'exécution de l'analyse au laboratoire (phase analytique) et se termine avec l'interprétation et la transmission du résultat au clinicien (phase post-analytique). La qualité du résultat biologique est alors tributaire de la maîtrise de toutes ces étapes et de toutes les erreurs susceptibles d'entacher chaque activité. En microbiologie, comme dans toutes les autres disciplines de biologie, beaucoup d'efforts ont été consacrés ces dernières années à l'amélioration des performances analytiques (ergonomie des analyseurs, précision, exactitude, diversification des méthodes, description des interférences, temps de réponse) et à la qualité de la prestation biologique auprès du clinicien. Toutefois, la PPA reste la moins maîtrisée [9]. Ce travail est une revue des différentes étapes de la PPA en microbiologie, une mise à nu de ses différents composants, ainsi que des moyens de maîtrise de la qualité de ce processus.

### 1-Les différentes étapes de la phase pré-analytique

La PPA se définit comme «une série d'étapes commen-

çant chronologiquement par la prescription des analyses par le clinicien, la préparation du patient, le prélèvement du spécimen, l'acheminement jusqu'au laboratoire et se terminant au début de la procédure analytique» [8].

#### 1-1 La prescription

La prescription des analyses microbiologiques résulte d'une réflexion intégrant d'une part les contextes, épidémiologique, clinique et para-clinique, et d'autre part l'objectif attendu de cette démarche. C'est de la qualité de cette prescription, concernant la rédaction de la demande et l'information nécessaire délivrée au patient que va dépendre le bon déroulement des étapes ultérieures. Il s'agit habituellement d'établir le diagnostic d'une maladie infectieuse, de détecter une persistance ou un portage ou de rattacher certaines manifestations particulières à leurs causes infectieuses [10,11]. La prescription en microbiologie est un acte souvent complexe et doit être correctement maîtrisé, car, automatisme de prescription et dilution des responsabilités ne peuvent être qu'à l'origine de demandes inadaptées, de retard de diagnostic et d'erreurs de prescription. Il est alors indispensable de se conformer aux bonnes pratiques et de fournir toutes les informations nécessaires sur l'identité du patient et du prescripteur. Le contexte clinique et thérapeutique dans lequel est faite la prescription est aussi important pour la bonne orientation de la recherche microbiologique et de son interprétation [12-14]. A titre d'exemple, des renseignements sur la présence de fièvre associée ou de contexte de toxi-infection alimentaire individuelle ou collective, la prise d'antibiotiques, la présence d'une neutropénie ou d'un syndrome hémolytique urémique, de voyage récent en pays tropical sont éléments nécessaires pour orienter le biologiste pour une recherche bactérienne ciblée lors d'une coproculture [15].

#### 1-2 Exécution du prélèvement : Second acte clé de la PPA.

Une étape de préparation doit précéder le prélèvement. Elle comprend la vérification de l'identité du patient, de la nature des examens prescrits, de l'adaptation du matériel du prélèvement, de l'antiséptique et du récipient utilisés et l'information du patient sur le prélèvement à effectuer [14]. Tous les renseignements nécessaires sur le moment, la méthode et le matériel à utiliser, la quantité d'échantillon à prélever et toutes les conditions adaptées aux techniques d'analyse utilisées doivent être fournis par le microbiologiste.

Savoir choisir le moment, revient à savoir qu'un prélèvement à visée diagnostique doit être effectué dès le début du processus infectieux avant l'administration d'agents antimicrobiens, et en cas d'échec d'un traitement préventif ou curatif, celui-ci doit être interrompu avant de réaliser le prélèvement. Cependant, l'antibiothérapie en cours reste justifiée quand la sévérité de l'évolution ne permet pas son arrêt ou encore chez les patients neutropéniques ou immunodéprimés. Des modalités techniques peuvent être alors proposées comme l'ensemencement sur des milieux contenant les inhibiteurs de l'antibiotique ou le prélèvement à la vallée de la cinétique de l'antibiotique [11].

Le choix des méthodes de prélèvement est tributaire de l'objectif de l'analyse, du type de l'échantillon et du site anatomique ainsi que de l'espèce recherchée. En bactériologie, les échantillons issus de sites stériles à l'état physiologique et recueillis selon des méthodes limitant le risque de contamination exogène sont souvent les plus contributifs. Les liquides issus de séreuses, les pus issus de collections fermées, les échantillons issus de sites profonds recueillis chirurgicalement et les biomatériaux endoprothétiques appartiennent à cette catégorie. L'isolement mono-microbien dans ces cas suffit au diagnostic de l'infection.

Les échantillons potentiellement polymicrobiens exigent rarement des méthodes de recueil invasives. En général, ces prélèvements (prélèvements pulmonaires non protégés : crachats, fibro-aspirations bronchiques, ceux issus de lésions cutanées ou muqueuses, les pus issus de collections ouvertes, les matières fécales...) sont souvent non contributifs puisque les indications sont rarement évaluées par le clinicien et sont prescrits isolément du contexte clinique, d'autant plus que certaines bactéries impliquées dans le processus infectieux peuvent faire parti de la flore commensale [11,14].

Dans certains cas, seule l'orientation fournie par le clinicien permettra le choix de la démarche du prélèvement, des méthodes analytiques et donc du diagnostic. C'est pourquoi la recherche de certains germes doit être nommément explicitée par le prescripteur. La recherche de ces derniers peut nécessiter des conditions particulières de prélèvement. C'est le cas pour les mycobactéries, où une recherche sur trois jours est recommandée vu le caractère intermittent de l'excrétion bactérienne, ou encore la recherche directe par biologie moléculaire [11,12].

### 1-3 L'identification

Etape importante du processus « prélèvement », l'identification doit se faire au même moment que le prélèvement et dans les mêmes conditions par la personne l'ayant effectué (temps et espace) pour éviter un étiquetage non conforme à l'analyse prescrite et les éventuelles inversions de tubes.

Quelque soit le système utilisé, étiquettes ou étiquettes code à barres, l'identification doit comporter les renseignements suivants: nom, prénom, matricule, nature de l'échantillon et date et heure du prélèvement [8].

### 1-4 Transmission et conservation

La conservation de la viabilité des bactéries étant nécessaire jusqu'à l'analyse, il est nécessaire de respecter les délais d'acheminement (qui doivent être les plus brefs possibles) et les températures de conservation. Si le prélèvement ne peut pas être transporté ou traité immédiatement, il est nécessaire d'utiliser des milieux de conservation. Ces milieux évitent la dessiccation et le stress oxydatif, et préservent la flore en l'état et l'intégrité des molécules microbiennes (ADN ou antigènes). Des milieux standards et d'autres plus spécifiques comme les milieux de transport pour les chlamydiae sont commercialisés. Les échantillons étant transportés avec les demandes d'analyse correspondantes [13,16].

### 1-5 Transfert et sous-traitance

Certaines techniques ne peuvent pas être pratiquées dans tous les laboratoires car elles sont trop coûteuses et difficiles à maîtriser. Les échantillons ou des aliquotes correspondants doivent dans ce cas être acheminés vers des laboratoires de référence ou des laboratoires qui pratiquent couramment ces techniques. Le transfert des échantillons peut se faire directement à partir du service prescripteur vers le laboratoire où sera effectuée l'analyse ou vers le laboratoire de la structure correspondante, et c'est ce dernier qui se chargera de l'envoi. L'emballage, la signalisation et le transport des échantillons de matériel infectieux doivent être effectués selon les procédures réglementaires assurant la sécurité des personnes, la viabilité des micro-organismes à cultiver et l'intégrité des structures à mettre en évidence [11].

### 1-6 Réception au laboratoire

Les prélèvements accompagnés de leurs feuilles de pres-

cription sont réceptionnés au laboratoire. Cette phase comprend le tri, le traitement des demandes urgentes, l'identification et l'enregistrement des non conformités. Toutes les demandes sont alors saisies selon les laboratoires sur un registre d'admission, une feuille de travail ou sur un ordinateur. Cette étape est critique puisqu'elle prend en compte la vigilance du laboratoire sur la traçabilité [12,17].

**1-7 Activité pré-analytique en zone technique**

Les échantillons et tous les documents joints (feuille de prescription, fiche de paillasse, et d'enregistrement...) sont acheminés en zone pré-technique. Différents types de traitements peuvent être pratiqués afin de préparer les échantillons : centrifugation, incubation... Dans certaines situations, l'analyse microbiologique est différée et les échantillons doivent être conservés dans des conditions garantissant la qualité des spécimens et la viabilité des micro-organismes [11].

La conservation, avant analyse, présente plusieurs risques à maîtriser, selon les lieux où sont réalisées les étapes de prélèvement : combien de temps, à quelle température, pour quels paramètres. Si le risque est relativement facile à maîtriser pour les échantillons sanguins, la prise en charge optimale des autres types d'échantillons de microbiologie pose généralement des problèmes [17]. La conservation à +4°C semble la mesure la plus adap-

tée surtout pour les selles et les urines en cas d'analyse bactériologique différée. Cependant, elle est controversée pour les échantillons d'origine pulmonaire qui peuvent contenir des bactéries pathogènes fragiles telles que Haemophilus influenzae, Neisseria meningitidis qui sont particulièrement sensibles au froid. De même, les échantillons génitaux, oculaires, respiratoires ne doivent pas être conservés à +4°C mais à température ambiante [11,16].

**2- Complexité de la PPA en microbiologie**

La PPA est une phase à risque. Elle représente la phase la plus longue du processus biologique (57 à 75% du temps total de l'analyse), se déroule aussi bien à l'extérieur qu'à l'intérieur de l'hôpital (des prélèvements type urines ou selles pouvant être effectués par les patients eux-mêmes en dehors de l'hôpital). Elle implique une multitude d'acteurs en dehors du laboratoire en particulier le prescripteur et le personnel soignant, avec le risque d'erreurs à toutes les étapes [9, 10, 18].

La multiplicité des méthodes en microbiologie et la grande panoplie de prélèvements et du matériel utilisé, ainsi que des procédés de transport, constituent d'autres traits de complexité de cette phase. Le diagramme d'Ishikawa ou méthode des 5M, appliqué à la PPA en microbiologie permet la mise à nu de tous ses acteurs et composants (figure 1).

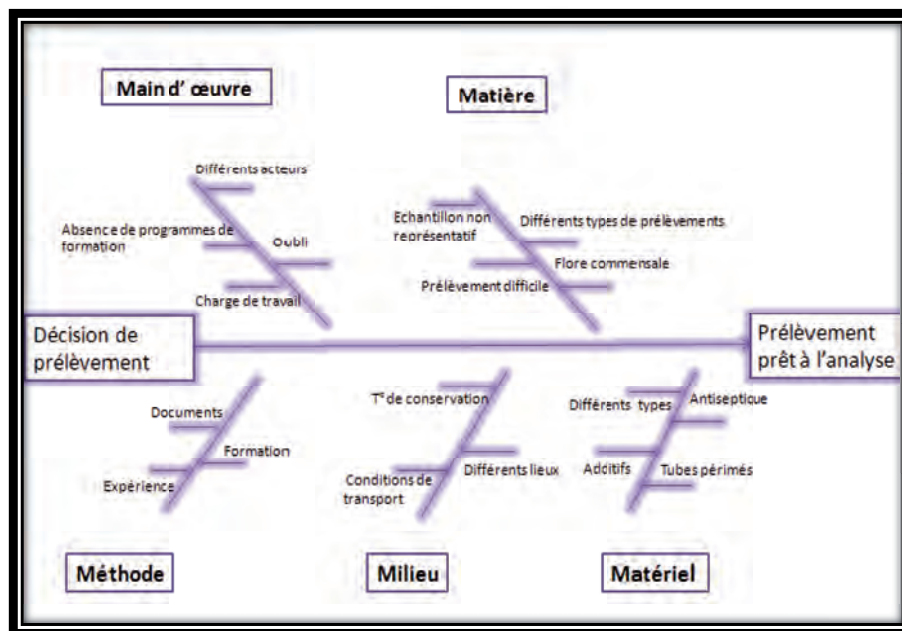


Figure 1 : Diagramme d'Ishikawa appliqué à la PPA en microbiologie

### 3- Moyens pour la maîtrise de la PPA

La maîtrise de la PPA passe par une démarche qui intègre une approche processus et qui apporte une meilleure définition des fonctions et des responsabilités. L'élimination du risque de non-conformité est un objectif essentiel auquel contribuent fortement l'application des procédures ainsi que la mise en place des actions de suivi et d'amélioration [19].

#### 3-1 Approche processus

La représentation sous forme de processus permet de considérer une démarche qualité prenant en considération toutes les exigences et les spécificités de la PPA en microbiologie. Elle va permettre également de définir les liens qui l'unissent aux autres composants du processus de l'analyse médicale (Processus analytique et post-analytique). Puisque l'élément de sortie de la PPA constitue l'élément d'entrée de la phase analytique et c'est de la qualité de l'ensemble des processus que va dépendre le fonctionnement de tout le système (Figure 2) [1,15].

#### 3-2 Gestions des ressources humaines

La qualité impose une valorisation des responsabilités et une amélioration des compétences. Il s'agit de faire adhérer l'ensemble du personnel intervenant à la démarche du management de la qualité, dès la génération de la demande jusqu'à la préparation de l'échantillon pour l'analyse. Il s'agit de cliniciens, d'infirmières, de coursiers, de secrétaires, de techniciens et de biologistes et chacun doit se sentir responsable. Ceci revient à rappeler à chaque professionnel, tout «le savoir faire» de son métier, mais aussi l'impact de sa pratique sur la pertinence du résultat et sur la prise en charge des patients. L'éducation et la formation sont les éléments clés du succès et la gestion de la qualité doit être considérée comme un outil d'amélioration du travail. La présence d'une personne, dédiée responsable qualité, est indispensable afin d'orienter et coordonner la politique qualité du laboratoire. [7, 8, 12, 20]. Un pilote PPA, une habilitation du personnel responsable de la réception et de l'enregistrement des examens micro-

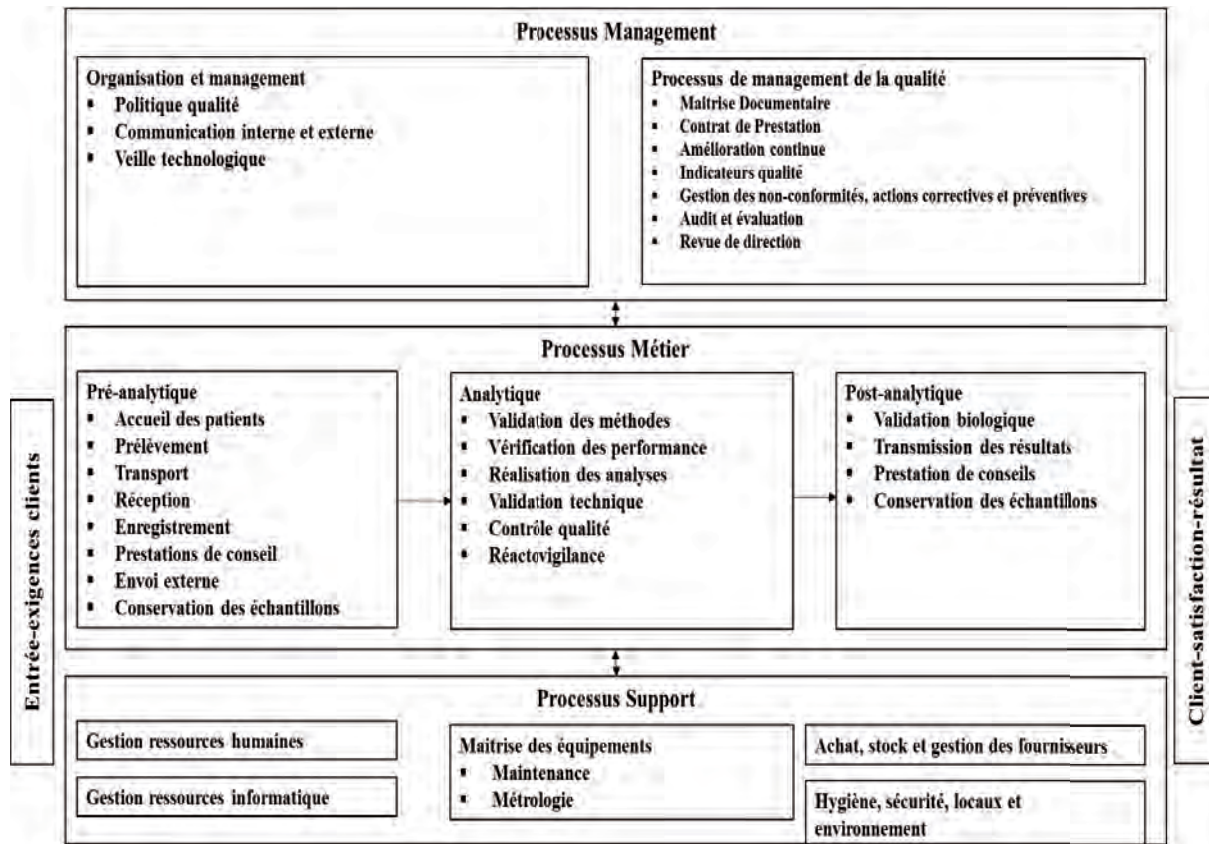


Figure 2 : Cartographie des processus d'un laboratoire de biologie médicale [1]



biologiques est encore un grand acquis pour la qualité du processus [1, 15].

### 3-3 Elaboration des documents qualité

La formalisation de toutes les étapes par des documents écrits fait partie intégrante du management de la qualité. Les prescriptions du GBPL sont très claires sur ce point [7]. La liste des documents nécessaires pour organiser la PPA apparaît complète et précise dans le texte du GBPL. Il est donc important d'en assurer la maîtrise par la rédaction d'un guide ou d'un manuel de prélèvements microbiologiques précisant les modalités de prescription (feuille de prescription, indication médicale, choix des méthodes, catalogue des analyses...) et comportant des instructions et des procédures en rapport avec les modalités de préparation du patient, le type, la quantité de l'échantillon à prélever, le moment, le matériel de recueil et tout additif nécessaire.

L'élaboration des documents organisant la phase pré-analytique est sous la responsabilité du laboratoire qui doit formaliser également des procédures, des instructions sur l'identification, la maîtrise et l'enregistrement des non conformités (NC) ainsi que les critères d'acceptation ou de rejet des échantillons non conformes. Des procédures et des modes opératoires précisant les conditions de transport (délai, température, sécurité...), de réception, d'enregistrement, d'étiquetage, de traitement des demandes urgentes et sous traitées doivent être élaborés [7, 8, 19]. Par ailleurs, le laboratoire est tenu de compléter sa base documentaire par la mise en place d'un système de veille documentaire (réglementaire, normative, technique, réactovigilance...) [16]. Les référentiels de microbiologie médicale peuvent être utilisés comme guide pour mettre en écrit ces instructions conformément aux bonnes pratiques. Des manuels de biosécurité en laboratoire peuvent également constituer une base pour formuler toutes les exigences nécessaires pour la gestion du risque inhérent au transport ou à l'élimination du matériel infectieux [21,22]. Pour une démarche qualité solide et pérenne, la rédaction des différents documents organisant la PPA doit être le résultat d'une démarche participative de l'ensemble des acteurs impliqués dans le processus [7, 8, 19].

Une implication du service médical s'avère également indispensable. Elle peut être assurée par l'envoi de courriers périodiques, par des réunions d'information et des

conventions avec les préleveurs. Des contrats doivent être formalisés avec les prescripteurs, stipulant les exigences et engagement des deux parties (respect du manuel du prélèvement fourni par le biologiste, communications des informations cliniques versus rapidité de traitement des demandes et de communication des résultats) [1].

### 3-3 Gestion des non-conformités (NC)

Les erreurs pré-analytiques sont fréquentes et sont estimées à 85%, contre 4% et 11% respectivement pour la phase analytique et la phase post-analytique selon les études. Les anomalies sont variables et peuvent concerner la prescription, la qualité et/ou la quantité du prélèvement, le choix des récipients, l'identification, les modalités de transport, de prétraitement, de conservation et l'enregistrement des demandes [15, 18, 23].

Le suivi des NC et des dysfonctionnements doit présenter toujours une priorité. Cette gestion exige en amont, la constitution d'un référentiel définissant les règles de conformité, les responsabilités et les actions associées (qui fait quoi, comment, où), qui sera diffusé auprès des différents acteurs. La phase pré-analytique est la plus concernée par les non-conformités. Ces erreurs sont vérifiées à la réception des prélèvements et enregistrés sur une fiche de NC. Le biologiste est responsable des échantillons biologiques acceptés dans son laboratoire. Il doit refuser tout échantillon prélevé ou transmis dans des conditions non conformes aux procédures techniques et réglementaires. Le motif de refus doit être obligatoirement porté à la connaissance du médecin prescripteur sans délai. Lorsqu'il s'agit d'un prélèvement difficile ou unique (LCR, biopsie), les critères d'acceptation peuvent être élargis avec des réserves sur les résultats [11, 16].

### 3-4 Analyse des données et amélioration continue

Les actions sus-citées constituent des mesures curatives visant à attirer l'attention sur l'erreur et à rappeler les bonnes pratiques et l'importance de la vigilance dans le travail de l'équipe de soins. La fiche de NC sert de fiche de suivi des mesures établies et de leur efficacité. Une analyse des causes et une hiérarchisation des défaillances détectées doivent être alors menées. Des méthodes, comme celle des 5M et la méthode AMDEC (analyse des modes de défaillances, de leurs effets et de leurs criticités) ou APR (analyse préliminaire des



risques), peuvent être utilisées [14]. A ce niveau, le management rejoint l'élimination des causes d'un dysfonctionnement avéré ou potentiel ainsi que la gestion et la prévention des risques [24, 25].

Le bilan de ces actions instaurées peut être réalisé dans le cadre d'une revue de direction au moins une fois par an. La direction du laboratoire, assistée par le responsable qualité ainsi que le pilote ou référent du processus, doit réaliser une analyse globale de l'ensemble des anomalies afin d'en étudier la récurrence à long terme, d'évaluer les pistes d'amélioration, de statuer sur l'efficacité des mesures prises et de définir les nouveaux objectifs. Un retour d'information sur les résultats obtenus est primordial afin que l'ensemble du personnel réalise et comprenne l'impact de la gestion des NC de son secteur sur la qualité du résultat [25].

Les actions d'amélioration doivent être également enregistrées et leur efficacité doit être mesurée. Des actions de suivi telle que l'établissement d'indicateurs, de tableaux de bord, des actions d'audit sont utilisées [24, 25].

### 3-5 Indicateurs qualité

Les indicateurs qualité constituent un élément de mesure et de surveillance de la démarche qualité. Ils doivent être synthétisés à partir des éléments clés impactant le fonctionnement du processus. Pour la PPA, des informations sur les NC enregistrés, leur nombre, leur origine et leur nature par type de demande, de service et/ou par activité et même personne peuvent être un indicateur fiable de la qualité de ce processus. La présentation du bilan des réclamations écrites ou émises oralement, les renseignements requis à partir d'un questionnaire de satisfaction conduit auprès des patients ou des prescripteurs peut refléter la qualité d'accueil ou de communication avec le laboratoire [26].

### 3-6 Audit

Différents types d'audits peuvent être conduits. L'audit interne se fait à la demande de la cellule qualité ou de la direction. L'audit externe se déclenche à la demande d'un client (service de soins à l'hôpital par exemple). Quant à l'audit tierce partie, il correspond à un appel à la certification. La logique étant d'amener l'audit à percevoir les pistes d'amélioration à développer dans ses pratiques professionnelles pour mieux répondre aux besoins des patients et aux attentes des cliniciens.

L'audit en microbiologie nécessite d'être axé sur les points critiques et les interfaces des différents processus en tenant en compte des spécificités de la discipline. L'auditeur doit posséder une bonne connaissance des référentiels de microbiologie et des normes spécifiques (ISO 15189, ISO 22870 et ISO 19011). L'audit mené au niveau de la PPA se focalisera sur les questions relatives aux modalités de prélèvements et de transport, les critères de rejet et d'acceptation des échantillons. Au cours de l'audit, le laboratoire doit également répondre aux questions sur les modalités d'obtention des renseignements cliniques, les règles de confidentialité, sur la communication de son manuel de prélèvement aux préleveurs et l'existence de contrats établis avec les préleveurs externes. Des tests de traçabilités relatifs par exemple au dossier patient ou à l'identité du préleveur seront également effectués [27].

## CONCLUSION

La phase pré-analytique en microbiologie est une phase complexe dans toutes ses étapes. Sa particularité tient dans la grande variété de ses exigences : nature de prélèvements, de supports, des acteurs intervenant et du flux des informations transmises... Le management de la qualité de cette phase est sous l'entière responsabilité du biologiste. L'élaboration des documents assure une meilleure traçabilité et un passage d'une tradition orale qui commande la plupart de nos activités à la culture de l'écrit. Par ailleurs, la maîtrise de la PPA passe par la mise en place d'un programme de formation continue et d'information pour tous les acteurs et par la prise de conscience d'une gestion totale de la qualité. L'avènement d'un texte officiel en Tunisie pour le management de la pratique de laboratoire est un grand acquis dans le domaine de la qualité. Il reste aux instances concernées de fournir les moyens et les ressources nécessaires à la mise en place de ce système de management de la qualité et en vérifier l'efficacité.

## RÉFÉRENCES

1. Hidri N, Izopet J. Le management de la qualité. In Rémic. Société Française de Microbiologie. 2015; 9 : 81-91
2. Pascal P, Beyerle F. Les référentiels qualité applicables dans les laboratoires d'analyses de biologie médicale. *Pathol Biol* 2006;54:317-324.

3. Vaubourdolle M, Vassault A. Recommandations pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale. *Ann Bio Clin* 2010. 68 (Hors série N°1).
4. COFRAC. Bonnes Pratiques de Laboratoire. Available from:URL: [http://www.cofrac.fr/documentation/index.php?fol\\_id=34](http://www.cofrac.fr/documentation/index.php?fol_id=34) (consulté le 19/06/2016).
5. Ovaguimian O, Asselot C, Testemale M, Roux, Schneider V, Marechal V et al. Mise en place d'un système d'assurance de la qualité dans un laboratoire de l'AP-HP. *Rev Fr Lab* 1999;309:45-50.
6. JORT. Arrêté N° 36 du ministère de la santé du 20 mai 2011, portant approbation du guide de bonne pratique de laboratoire.
7. Guide de bonne pratique de laboratoire. Ministère de la santé. Unité des laboratoires de biologie médicale, 2010.
8. Norme Internationale ISO 15189-2012, relative aux exigences particulières concernant la qualité et la compétence dans les laboratoires d'analyses de biologie médicale.
9. Gouget B. Phase pré-analytique, qualité des résultats de laboratoire et démarche qualité à l'hôpital. *Rev Fr Lab* 1997; 292:44-46.
10. Pollet J, Sarran A, Daumain P, Gouchet B. Evaluation de la qualité de la phase préanalytique. *Rev Fr Lab* 1997; 292:46-48.
11. Hermann J.L, Lamy B, Peigue-Lafeuille H. Les étapes de l'analyse de microbiologie. In Rémic. Société française de microbiologie. 2015; 1:15-25.
12. Leblanc RM. Démarche qualité pré-analytique en microbiologie. *OptionBio* 2009;413:22-24.
13. Gerome P, Dusseau JI, Masseron T, Bercion R. La phase préanalytique en bactériologie. *Rev Fr Lab* 2001;335:23-29.
14. Murat P. La phase pré-analytique des analyses de biologie médicale : Rôle du PHISP. Comment le biologiste assure la maîtrise de cette étape. Mémoire de l'école nationale de la santé publique, Rennes. France 2003.
15. Emile C. Spécificités de l'accréditation en bactériologie : exemple de la coproculture. *OptionBio* 2012 ;474 :22-24
16. Klein JP. L'accréditation en bactériologie. *Rev Fr Lab* 2011;436:39-50.
17. Le Blanc RM. Accréditation : les points critiques en pré-analytiques. *Option Bio* 2013;486:23-24.
18. Borderon E, Barthez JB, Poisson DM. Erreurs dans la phase préanalytique des examens de bactériologie : nécessité de l'application stricte du GBEA. *Rev Fr Lab* 1999;309:39-43.
19. Commission du contrôle de qualité des analyses de biologie médicale. Banques d'items de la phase pré-analytique. La direction générale de la santé. France 2009. <http://www.sante.gouv.fr/la-banque-d-items.html> (consulté le 15/05/2016).
20. Société Française de Microbiologie. Référentiel de microbiologie médicale. Rémic ed ;2015.
21. Organisation Mondiale de la Santé. Manuel de sécurité biologique en laboratoire. (<http://www.who.int/csr/resources/publications/biosafety/LabBiosMan3rdFrenchweb.pdf>) (consulté le 15/05/2016).
22. Emile C. Accréditation en microbiologie. *Option Bio*2011;458:22-23.
23. Deydier O, Morin A. Bilan des inspections des laboratoires publics d'analyses de biologie médicale de la région de Bourgogne. *Option Bio* 2008;393:22-24.
24. Lannoy A. Les indicateurs qualité. *Option Bio* 2009;425:22-23.
25. Bioconsultants, Bioqualité. Les non-conformités au laboratoire. *Option Bio* 2008;399.
26. Palix S, Bergès L, Nadal A, Borsnak J. Revue de direction: retours d'expérience. *Rev Fr Lab* 2013; 457: 29-33
27. Klein J.P, Bazin P.O. L'audit en bactériologie clinique : du concept à la réalisation . *Rev Fr Lab* 2014 ; 461 :77-93

## ARTICLE ORIGINAL

# Première étude du marqueur polymorphe MP6D9 chez une population d'enfants mucoviscidosiques

Chaïma Sahli \*,  
Sondess Hadj Fredj,  
Taieb Messaoud

Laboratoire de Biochimie Clinique  
Hôpital d'Enfants de Tunis-Tunisie

### Résumé

Depuis 1989, date de découverte du gène CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) responsable de la mucoviscidose, plus de 1900 mutations ont été décrites. Cette grande hétérogénéité des mutations mucoviscidosiques permet d'expliquer en partie l'importante variabilité clinique de cette affection. Nous nous sommes intéressés dans le présent travail à l'étude pour la première fois du polymorphisme extragénique MP6D9 dans une population Tunisienne mucoviscidosique.

Notre étude a porté sur 60 patients ayant un test de la sueur positif ( $[Cl^-] > 60 \text{ mmol/L}$ ). Une population témoin de 45 sujets sains a été également incluse. L'étude du marqueur polymorphe MP6D9 a été réalisée par la technique PCR-RFLP.

Les résultats obtenus ont montré la prédominance du génotype 2/2 chez les patients étudiés (73.33% vs 15.55%) et du génotype 1/2 chez nos témoins analysés (53.33% vs 18.33%). Nos résultats sont en accord avec ceux retrouvés dans la littérature ce qui confirme l'implication de ce marqueur dans la présentation clinique et l'évolution de la mucoviscidose. Notre travail, portant sur l'intérêt du polymorphisme MP6D9 sur le gène CFTR, constitue l'un des premiers travaux effectués dans la population mucoviscidosique Tunisienne et confirme l'utilité de ce marqueur dans l'étude de l'origine du locus CFTR et dans la variabilité de l'expression clinique.

**Mots-clés :** Mucoviscidose, gène CFTR, polymorphisme MP6D9.

### Abstract

Since the identification of the CFTR gene (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) responsible for cystic fibrosis (CF), over 1900 mutations are described. This large molecular heterogeneity can explain in part the significant clinical variability of the disease which may be due to environmental or genetic factors. With the development of molecular biology techniques, more and more genetic markers can be tested to study the clinical variability of cystic fibrosis.

In this work, we are interested for the first time to study the extragenic polymorphic marker MP6D9 in a CF Tunisian population.

Our study involved 60 CF Tunisian patients with a positive sweat test ( $[Cl^-] > 60 \text{ mmol/L}$ ). A cohort of 45 healthy controls was also enrolled. The analysis of the polymorphic marker MP6D9 was performed by PCR-RFLP.

The distribution of MP6D-9 genotypes and alleles was significantly different between CF and healthy subjects. We noted that the 2/2 genotype was higher in CF patients than in controls (73.33% vs 15.55%), whereas the frequency of the 1/2 genotype was lower in our patients (53.33% vs 18.33%).

Our results are consistent with those found in the literature which confirms the involvement of this marker in the clinical presentation and evolution of cystic fibrosis.

The study of polymorphism MP6D9 is one of the first research in the CF Tunisian population which allowed us to show the involvement of this marker in the expression of cystic fibrosis in our population.

**Key words:** Cystic Fibrosis, CFTR gene, MP6D9 marker.

## INTRODUCTION

La mucoviscidose ou «fibrose kystique du pancréas» est une maladie héréditaire de transmission autosomique récessive. Elle est considérée dans les populations caucasiennes comme étant la plus fréquente des maladies génétiques potentiellement graves dès l'enfance (1). Elle résulte d'un dysfonctionnement d'une protéine CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator) intervenant dans la régulation du transport des chlorures au niveau de la membrane cellulaire. Les principales manifestations cliniques concernent les voies respiratoires, le tube digestif et les glandes sudoripares (2). Depuis 1989, date de découverte du gène CFTR, plus de 1900 mutations ont été découvertes dans le monde dont la plus fréquente est la mutation F508del (3). En Tunisie, les travaux sur la mucoviscidose ont débuté depuis 1990 permettant d'établir le spectre de mutations responsable de la maladie (4).

Le diagnostic de la mucoviscidose repose sur le dosage du chlore sudoral et est confirmé par une étude génétique à la recherche de la mutation en cause. Toutefois, l'expression de la maladie reste très variable d'un individu à l'autre, aussi bien sur le plan clinique que moléculaire. Les thérapeutiques actuelles purement symptomatologiques se contentent de traiter les conséquences du dysfonctionnement de la protéine, afin d'améliorer la qualité et la durée de vie des patients.

Compte tenu de cette variabilité génotypique et phénotypique, plusieurs approches ont permis d'identifier les rôles des polymorphismes du gène CFTR dans l'expression et l'évolution de la maladie. De ce fait, nous sommes intéressés à l'étude du polymorphisme extragénique MP6D9 au niveau d'une population Tunisienne malade et saine.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Patients

Notre étude a porté sur 60 sujets mucoviscidosiques adressés à notre laboratoire de Biochimie et de biologie moléculaire à l'Hôpital Béchar Hamza de Tunis de différents hôpitaux tunisiens, dont l'âge varie entre 3 jours et 12 ans (avec une médiane de 5 mois), présentant des

concentrations élevées en chlorures avec une moyenne ( $\pm$ DS)= $97.5 \pm 42,5$ mmol/l obtenues à l'aide d'un test de la sueur. Le recensement des informations concernant les malades étudiés a été mené par l'interrogatoire de l'un ou des deux parents. En parallèle, une cohorte de 45 sujets sains sans antécédents de mucoviscidose a été également incluse dont l'âge varie entre un mois et 15 ans, ils sont originaires de différentes régions de la Tunisie.

## MÉTHODES

L'étude phénotypique a été effectuée par le biais du test de la sueur selon la technique de l'Exsudose. Le test est considéré comme positif pour des concentrations des chlorures  $> 60$  mmol/l. L'extraction de l'ADN a été effectuée par la méthode de précipitation saline classique (*salting out*) (5).

Les conditions de l'amplification de PCR et les séquences des amorces ont été précédemment décrites. Le fragment amplifié est de 377pb (6). Le génotypage consiste à la recherche du marqueur MP6D9 par la technique PCR-RFLP (Restriction Fragments Length Polymorphism). Le polymorphisme de restriction est mis en évidence dès qu'une variation de séquence d'ADN est révélée par une modification de la carte de restriction (création ou abolition d'un site de restriction enzymatique). La digestion enzymatique a été effectuée à l'aide de l'enzyme de restriction MspI à une température d'incubation de 37°C pendant 3h. Une simple électrophorèse sur gel d'agarose à 2% des produits digérés a permis de visualiser la présence ou non de coupure en présence d'un marqueur de taille moléculaire (100 pb Promega®). Les tailles des deux fragments obtenus sont respectivement 204 et 173 pb.

L'ensemble des données statistiques a été analysé avec le logiciel SPSS (STATISTICAL PACKAGE FOR SOCIAL SCIENCES) version 20. La comparaison des variables qualitatives a été réalisée par le test chi2 selon le nombre de sujets par groupe. Ce test nous a permis de comparer des variables quantitatives et de tester l'adéquation d'une série de données à une famille de lois de probabilité ou de tester l'indépendance entre deux variables. Une différence est notée significative pour une valeur de  $p < 0.05$ .

## RÉSULTATS ET DISCUSSION

Notre étude a été menée sur une population malade portant sur 60 sujets mucoviscidosiques composée de 28 patients de sexe masculin et 32 patients de sexe féminin avec une sex-ratio de 0.74, il existe donc une répartition inégale en faveur des filles. L'âge du diagnostic des patients étudiés varie selon l'âge d'apparition des symptômes qui varie entre trois jours et 12 ans avec une médiane de 5 mois. De plus, nous avons remarqué que 77% des patients ont été diagnostiqués avant l'âge d'un an, ceci s'explique par le fait que la mucoviscidose s'exprime dès les premières années de vie. Notre population malade peut être donc qualifiée comme infantile. Le taux de consanguinité est de 58%. La répartition géographique a montré que les patients mucoviscidosiques ont été répertoriés sur tous les gouvernorats de la Tunisie ceci témoigne de la grande hétérogénéité des origines des patients étudiés. Toutefois, nous avons noté une abondance au niveau de la région du Centre Ouest avec 22.3% suivie des régions du Centre Est avec 19.6% et du Sud Est avec 15.2%.

Le tableau clinique des malades mucoviscidosiques est le premier signe indicateur de la présence de la maladie, mais les diagnostics biochimique et moléculaire restent un outil indispensable pour le diagnostic de la mucoviscidose.

Le diagnostic biochimique de cette pathologie est confirmé par un test de la sueur positif par la technique de l'exsudose avec une moyenne des chlorures sudorales ( $\pm$ DS)= $97.5 \pm 42.5$  mmol/l (étant donné que  $[Cl] > 60$  mmol/L est considérée comme pathologique) suivi par une étude moléculaire du gène CFTR à la recherche des mutations en cause.

Une population témoin mixte de 45 sujets sains a été également incluse dans notre étude.

Les malades mucoviscidosiques analysés sont caractérisés par une hétérogénéité génotypique et phénotypique, ils sont pour la majorité diagnostiqués précocement au cours de la première année de la vie (77%), pour 23% de nos patients la maladie est diagnostiquée plus tardivement. Les signes respiratoires et l'infection des voies aériennes aux quels s'ajoute également une atteinte digestive dominant considérablement

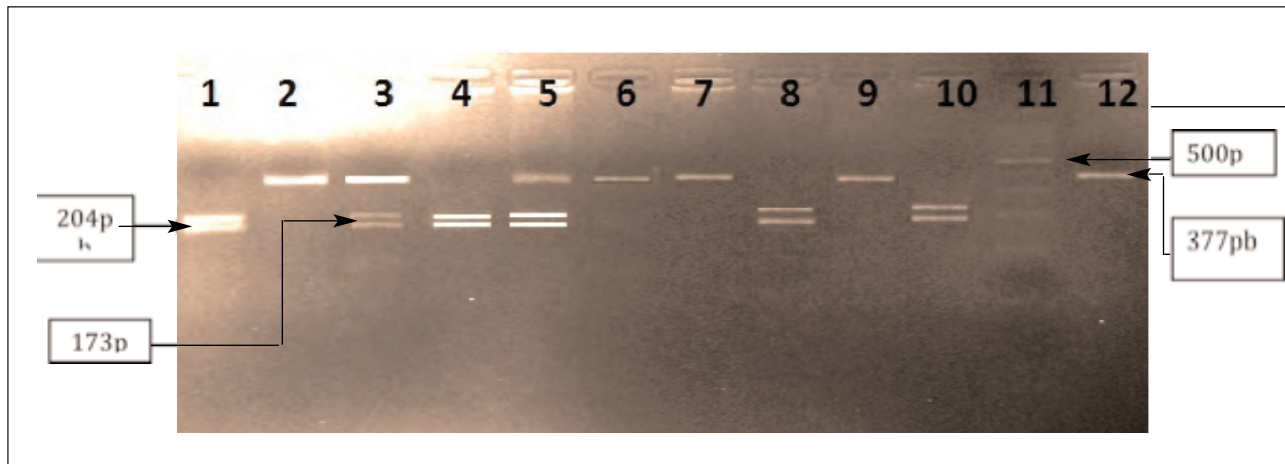
le tableau clinique chez nos sujets étudiés. L'étude clinique des patients analysés nous ont permis de classer nos malades en trois groupes: malades avec une atteinte respiratoire, malades avec une atteinte digestive et malades avec une atteinte mixte (digestif et respiratoire). En effet, 45% de nos malades ont présenté une atteinte respiratoire et une atteinte digestive. Le syndrome respiratoire se manifeste par des bronchites récurrentes, une toux chronique, sèche et quinteuse, un encombrement bronchique et une expectoration mucopurulente. Une infection chronique par *Pseudomonas aeruginosa* (bacille pyocyanique) constitue la complication infectieuse principale de la maladie. L'atteinte digestive est caractérisée par une insuffisance pancréatique exocrine accompagnée par une diarrhée chronique avec émission de selles volumineuses et grasses, des douleurs abdominales et une insuffisance pondérale contrastant avec un appétit conservé. Cette diarrhée chronique est responsable d'une hypotrophie pondérale puis staturale chez les patients mucoviscidosiques. 35% de nos patients présentent uniquement une atteinte digestive. On observe également une atteinte pulmonaire chez 20 % de nos malades.

Dans le présent travail, nous avons procédé à l'étude du polymorphisme extragénique MP6D9 situé à 40 kb en amont du début du gène CFTR. Ce polymorphisme touche le site de restriction de l'endonucléase MSPI. Il a été étudié par PCR RFLP. Il s'agit d'une technique simple à réaliser et rapide car elle nous a permis d'avoir des résultats dans moins de 6 heures. C'est une méthode fiable et ses possibilités d'application sont très étendues. C'est une technique bien qu'elle est très utilisée, elle n'est pas automatisable.

La taille du fragment amplifié est de 377 pb. Le fragment amplifié est ensuite incubé avec l'enzyme de restriction MSPI. Les produits de la digestion sont contrôlés par la suite sur un gel d'agarose de 2% en présence d'un marqueur de taille moléculaire (100 pb Promega) et d'un témoin non digéré (Figure 1).

Le polymorphisme MP6D9 est un locus biallélique où l'allèle 1 se traduit par l'absence de site de restriction et l'allèle 2 se traduit par sa présence. Les résultats de la migration des fragments digérés montrent trois profils électrophorétiques différents: le premier marque la présence d'une seule bande de 377 pb de taille moléculaire, ce qui correspond à un génotype homozygote normal (1/1).





**Figure 1 : Profil de migration électrophorétique des produits digérés par l'endonucléase MspI des fragments amplifiés.**

- Puits 1, 4,8 et 10: Sujets ayant le génotype 2/2
- Puits 3 et 5: Sujets ayant le génotype 1/2
- Puits 2, 6,7 et 9 : Sujets ayant le génotype 1/1
- Puits 12: Témoin non digéré
- Puits11: Marqueur de taille moléculaire (100 pb Promega ®)

Le second profil présente trois bandes de taille moléculaire différente; la première bande correspond à un fragment de 377 pb et les deux autres bandes correspondent aux deux fragments de 204 et 173 pb; il s'agit d'un profil correspondant à un génotype hétérozygote (1/2). Le troisième profil électrophorétique montre la présence de deux bandes correspondant aux deux fragments de tailles moléculaires 204 et 173 pb chacun qui sont issus de la digestion du fragment amplifié. Ce profil correspond à celui d'un homozygote dont le génotype est (2/2).

L'analyse de la distribution génotypique et allélique du

polymorphisme MP6D9 montre une différence significative entre le groupe de contrôle et le groupe des patients ( $p < 0,001$ ) (tableau I et tableau II). En effet, au niveau des patients, le génotype homozygote malade (2/2) est majoritairement dominant avec un taux de 73.33% suivi des génotypes hétérozygote (1/2) et homozygote normal (1/1) avec des fréquences respectives de 18.33% et 8.33%. A l'opposé, l'analyse génotypique au niveau des témoins montre une légère dominance du génotype hétérozygote (1/2) avec une fréquence de 53.33% suivi des génotypes homozygote normal (1/1) et homozygote malade (2/2) avec des fréquences

**Tableau I : Répartition génotypique du polymorphisme MP6D9 chez les malades et les témoins étudiés**

| Génotypes    | Nombre des sujets |           | Pourcentages (%) |            | Degré de signification de p |
|--------------|-------------------|-----------|------------------|------------|-----------------------------|
|              | Malades           | Témoins   | Malades          | Témoins    |                             |
| 1/2          | 11                | 24        | 18.33            | 53.33      | 0.001                       |
| 2/2          | 44                | 7         | 73.33            | 15.55      | 4.56 10 <sup>-9</sup>       |
| 1/1          | 5                 | 14        | 8.33             | 31.11      | 0.002                       |
| <b>Total</b> | <b>60</b>         | <b>45</b> | <b>100</b>       | <b>100</b> |                             |

NB : Le seuil de signification considéré est de 5%

**Tableau II: Répartition allélique du polymorphisme MP6D9 chez les malades et les témoins étudiés**

| Allèles | Nombre de chromosomes |         | Pourcentages (%) |         | Degré de signification de p |
|---------|-----------------------|---------|------------------|---------|-----------------------------|
|         | Malades               | Témoins | Malades          | Témoins |                             |
| 1       | 21                    | 52      | 17.5             | 57.77   | 1.31 10 <sup>-9</sup>       |
| 2       | 99                    | 38      | 82.5             | 42.22   |                             |
| Total   | 120                   | 90      | 100              | 100     |                             |

NB : Le seuil de signification considéré est de 5%

respectives de 31.11% et 15.55%. Selon l'expression clinique des patients analysés, nous avons observé une association entre le génotype (2/2) et l'atteinte digestive (p=0.046) mais aucune association n'a été retrouvée concernant l'atteinte pulmonaire et la colonisation par *Pseudomonas aeruginosa* (p=0.8). Toutefois, nous avons noté une association entre les génotypes 1/1 et 1/2 avec l'atteinte mixte (p=0.044) (tableau III). Cet avantage sélectif du MP6D9 chez le groupe CF est révélé dans de nombreux travaux à travers le monde avec lequel nos résultats sont conformes. En effet, Gasparini et ses collaborateurs (7) ont trouvé une association significative entre le génotype muté 2/2 et l'atteinte digestive ce qui confirmerait l'implication du marqueur extragénique MP6D9 dans la présentation clinique et l'évolution de la mucoviscidose (7, 8).

Etant donné l'hétérogénéité phénotypique et génotypique de la mucoviscidose, plusieurs études ont cherché à mettre en évidence le rôle des marqueurs génétiques (intra et extragénique) liés au gène CFTR dans l'expression et l'évolution de la maladie.

L'étude des marqueurs génétiques dans une population est un outil intéressant non seulement pour l'analyse de la corrélation phénotype génotype, mais également pour la détermination de l'origine ethnique de chaque mutation identifiée. En effet, depuis l'identification du gène CFTR, un nombre important de mutations a été rapporté au Consortium International de Mucoviscidose. Il a été montré que certaines mutations sont associées à des marqueurs spécifiques (9). L'étude des variants génétiques paraît importante pour augmenter l'informativité génétique lors du diagnostic prénatal et la détection de l'anomalie chez certaines familles lorsque une ou aucune mutation n'a été identifiée (10).

Une meilleure complétude des bases de données sur les marqueurs génétiques, notamment grâce à un développement important des techniques moléculaires et des bases de données informatiques, ainsi que des tailles d'échantillons importantes sont des facteurs essentiels pour l'étude de la composante génétique de la mucoviscidose.

**Tableau III : Implication du marqueur MP6D9 dans la variabilité clinique des patients CF**

| Génotypes                   | Atteinte pulmonaire | Atteinte digestive | Atteinte mixte |
|-----------------------------|---------------------|--------------------|----------------|
| 2/2                         | 5                   | 12                 | 7              |
| 1/1+ 1/2                    | 7                   | 9                  | 20             |
| Degré de signification de p | 0.8                 | <b>0.046</b>       | <b>0.044</b>   |

NB : Le seuil de signification considéré est de 5%  
Atteinte mixte : atteintes respiratoire + digestive

## CONCLUSION

Notre travail, portant sur l'intérêt du polymorphisme MP6D9 du gène CFTR, constitue l'un des premiers travaux effectués dans la population mucoviscidose Tunisienne et confirme son utilité d'une part dans le diagnostic moléculaire de la mucoviscidose dans notre pays et d'autre part dans l'étude de la variabilité de son expression clinique. Cette étude préliminaire devra être complétée sur un nombre plus important de patients mucoviscidosiques afin de confirmer les résultats trouvés.

## Références bibliographiques

1. Giniès JL, Urban T. Prise en charge du patient mucoviscidose. *Revue Francophone Des Laboratoires* 2007; 397: 73-7.
2. Girodon-Boulandet E, Costa C. Génétique de la mucoviscidose. *Médecine Thérapeutique* 2005 ; 8 (3) : 126-135.
3. Consortium international d'étude des mutations du gène CFTR. [En ligne]. [mis à jour 2011; consulté le 25 Avril 2011]. Disponible: <http://genet.sickkids.on.ca/cftr>
4. Messaoud T, Bel Haj Fredj S, Bibi A, Elion J, Férec C, Fattoum S. Épidémiologie moléculaire de la mucoviscidose en Tunisie. *Ann Biol Clin* 2005; 63 (6) : 627-630
5. Miller SA, Dykes DD, Polesky HF. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic acids research*. 1988;16(3):1215.
6. Huth A, Estivill X, Grade K, Billwitz H, Speer A, Rosenthal A, et al. Polymerase chain reaction for detection of the pMP6d-9/MspI RFLP, a marker closely linked to the cystic fibrosis mutation. *Nucleic acids research*. 1989;17(17):7118.
7. Gasparini P, Novelli G, Estivill X, Olivieri D, Savoia A, Ruzzo A, et al. The genotype of a new linked DNA marker, MP6d-9, is related to the clinical course of cystic fibrosis. *Journal of medical genetics*. 1990;27(1):17-20.
8. Dork T, Neumann T, Wulbrand U, Wulf B, Kalin N, Maass G, et al. Intra- and extragenic marker haplotypes of CFTR mutations in cystic fibrosis families. *Human genetics*. 1992;88(4):417-25.
9. De Boeck K. Méthodes diagnostiques, caractéristiques cliniques et conseil dans la mucoviscidose. *Ann Nestlé*. 2006; 64: 119-130.
10. Hughes D, Dörk T, Stuurman M, Graham C. Mutation and analysis haplotypes of the CFTR gene in atypically mild fibrosis patients from North Ireland. *J Med* 2001; 38(2): 136-139.

## ARTICLE ORIGINAL

# Le syndrome 5q- : Expérience de l'hôpital Farhat Hached de Sousse

## 5q- syndrome: Experience of Farhat Hached hospital of Sousse

Néjia Braham-Jmili (1),  
Linda Khfacha (1),  
Yosra Ben Youssef (2),  
Ibtihel Ellouze (1),  
Halima Sendi Sennana (3),  
Monder Kortas (1).

- (1) Laboratoire d'Hématologie.  
(2) Service d'Hématologie Clinique  
(3) Laboratoire de Cytogénétique.  
CHU Farhat Hached -Sousse-  
Tunisie.

### Résumé

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) constituent un groupe hétérogène de pathologies clonales de la cellule-souche pluripotente myéloïde associant une moelle riche avec des signes de dysmyélopoïèse et une ou plusieurs cytopénies périphériques. Parmi ces SMD, le syndrome 5q- s'individualise par des caractéristiques qui lui sont propres. Ce syndrome prédominant chez les femmes, est défini par un tableau cytologique particulier associant une anémie macrocytaire réfractaire, souvent isolée, des mégacaryocytes hypolobulés accompagnés d'un taux de plaquette normal ou augmenté et d'une leucopénie absente ou modérée, un pourcentage de blastes médullaires strictement inférieurs à 5, et pour lequel la seule anomalie cytogénétique retrouvée est la délétion du bras long du chromosome 5.

Notre travail a porté sur 12 cas du syndrome 5q- diagnostiqués et suivis au service d'hématologie du CHU Farhat Hached Sousse entre 1995 et 2011. Ce qui a permis l'étude de ce syndrome rare avec ses différents aspects épidémiologiques, cliniques, cytologiques, caryotypiques et évolutifs. Dans notre série, le profil du syndrome 5q- est différent de celui de la littérature : la leucopénie rare dans le syndrome 5q-, est présente chez 3 patients. La thrombocytose présente dans 30 à 50 % des cas de la littérature, n'est observée que dans 2 cas seulement, par contre la thrombopénie qui est peu fréquente est trouvée chez 5 patients. La dysmyélopoïèse multilignée est présente chez 8 patients avec atteinte des trois lignées dans 4 cas seulement. Les mégacaryocytes monolobés de petite taille sont rencontrés dans tous les cas.

**Mots-clés :** syndromes myélodysplasiques, syndrome 5q-, myélogramme, caryotype

### Abstract

Myelodysplastic syndromes (MDS) are heterogeneous group of clonal disorders of myeloid pluripotent stem cell combining a rich bone marrow with signs of dysplasia and one or more peripheral cytopenia. Among these SMD, the 5q-syndrome is individualized by its own characteristics. This syndrome predominant in women, is defined by a particular cytological table combining refractory macrocytic anemia, often isolated, hypolobulated megakaryocytes accompanied by a normal or increased rate of platelet and absent or moderate leukopenia, a percentage of marrow blasts strictly less than 5, for which the only cytogenetic abnormality is found deletion of the long arm of chromosome 5.

Our practical work covers 12 cases of 5q-syndrome diagnosed and followed at the hematology department of the CHU Farhat Hached Sousse between 1995 and 2011. This allowed the study of this rare syndrome with different epidemiological, clinical, cytological, karyotypic and scalable. In our series, the profile of the 5q-syndrome is different from the literature: leucopenia rare in the 5q syndrome is present in 3 patients. Thrombocytosis (described in 30 to 50% of cases in the literature), is observed in only 2 cases, but thrombocytopenia which is infrequent is found in 5 patients. The multilineage dysplasia is present in 8 patients with three lineage dysplasia in 4 cases. Smaller hypolobated megakaryocytes are observed in all cases.

**Keywords:** myelodysplastic syndromes, 5q- syndrome, bone marrow aspiration biopsy, karyotype

## INTRODUCTION

Les syndromes myélodysplasiques (SMD) constituent un groupe hétérogène de pathologies clonales de la cellule souche pluripotente myéloïde associant une moelle riche avec des signes de dysmyélopoïèse [1]. Elles se caractérisent par une prolifération et une différenciation anormales des progéniteurs hématopoïétiques conduisant à une dysplasie des trois lignées. Il en résulte une hématopoïèse inefficace et des cytopénies périphériques [2]. La complication principale de cet état pré-leucémique est le risque de transformation en leucémie aiguë ou l'évolution vers une insuffisance médullaire [1].

Le syndrome 5q- est un paradigme unique de syndrome myélodysplasique caractérisé par la corrélation entre la cytologie et la cytogénétique. Il occupe depuis 2001 une place distincte dans la classification OMS des hémopathies myéloïdes.

Il est caractérisé par une prédominance chez le sujet âgé de sexe féminin, une anémie macrocytaire arégénérative profonde, un taux de plaquettes normal ou élevé et la présence de mégacaryocytes monolobés, un pourcentage de blastes médullaires inférieur à 5%, une délétion isolée du bras long du chromosome 5 (perte d'un segment chromosomique du bras long (q) du chromosome 5), une survie prolongée ainsi qu'un taux faible de transformation en leucémie aiguë myéloblastique (LAM).

L'objectif de ce travail est d'étudier les données épidémiologiques, cliniques et les caractéristiques hématologiques (hémogramme et myélogramme) et cytogénétiques chez 12 patients atteints d'un SMD de type syndrome 5q-.

## MATÉRIEL ET MÉTHODES

### Matériel

#### Patients

Ce travail est une étude rétrospective ayant colligé 12 cas de syndrome 5q- diagnostiqués et suivis au service d'hématologie du CHU Farhat Hached de Sousse pendant une période de 17 ans, entre 1995 et 2011.

#### L'exploitation des données des dossiers cliniques

Le recueil des données, sur les fiches établies, a été pratiqué à partir des dossiers d'hospitalisation et de l'hôpital de jour du service d'hématologie du CHU Farhat Hached de Sousse. Les fiches comportent les renseignements suivants :

- L'identification du patient : âge, sexe...

- La profession
- Les antécédents
- La date du diagnostic
- L'interrogatoire
- Les signes cliniques
- L'hémogramme à l'admission
- Le myélogramme
- Le résultat du caryotype médullaire
- Le résultat de la biopsie ostéomédullaire (BOM) (pratiquée lorsque le frottis de moelle est pauvre)
- Le traitement, l'évolution et la survie

## Méthodes

### Prélèvements

Les échantillons de sang ont été prélevés par ponction veineuse sur des tubes contenant comme anticoagulant l'EDTA (acide éthylène diamine tétraacétique) pour la réalisation de l'hémogramme.

Pour le myélogramme, le prélèvement a été fait par ponction médullaire au niveau du sternum.

### L'hémogramme

La numération des éléments figurés du sang et le calcul des constantes érythrocytaires ont été faits par des automates Beckman Coulter® (LH 750, HM-X, MAXM, ONYX). La NFS (Numération Formule Sanguine) a été complétée par la lecture au microscope d'un frottis sanguin coloré au MGG (May Grünwald Giemsa) par l'automate Hema-Tek, pour l'établissement de la formule leucocytaire et l'étude morphologique des globules blancs, des globules rouges et des plaquettes.

### Myélogramme

La coloration du frottis médullaire s'est faite au MGG. L'évaluation des signes de myélodysplasie a été établie selon un score basé sur 12 signes de dysmyélopoïèse et validée par 2 cytologistes :

- Dysérythropoïèse : asynchronisme de maturation nucléocytoplasmique, bi ou multinucléarité, cytoplasme feuilleté, cytoplasme vacuolé,
- Dysgranulopoïèse : hypo ou dégranulation, myélocytes et métamyélocytes géants, hyposegmentation des polynucléaires (PNN), hypersegmentation des PNN,
- Dismégacaryopoïèse : mégacaryocytes de petite taille, micromégacaryocytes, mégacaryocytes binucléés, mégacaryocytes avec noyau arrondi.

Une lignée est considérée dystrophique (porteuse de l'anomalie étudiée) si la dysplasie est présente dans au moins 10 % des cellules. La coloration de Perls était la



réaction cytochimique appliquée pour la détermination du score sidéroblastique et précisément l'étude du pourcentage des sidéroblastes pathologiques en couronne.

### **Caryotype**

Le caryotype a été réalisé au diagnostic sur des prélèvements de moelle osseuse après culture pendant 16 et 24 heures et marquage en bande reverse (étude cytogénétique conventionnelle). Les données cytogénétiques ont été interprétées selon la nomenclature internationale (ISCN).

### **BOM**

La biopsie ostéomédullaire a été pratiquée chez deux patients seulement, en raison de la pauvreté du frottis médullaire.

## **RÉSULTATS ET DISCUSSION**

### **Aspects épidémiologiques et cliniques**

Les données épidémiologiques et cliniques sont résumées dans le tableau I.

#### **Aspects épidémiologiques**

L'examen de 300 cas de SMD diagnostiqués entre 1995 et 2011 a révélé 12 cas de syndrome 5q- avec une fréquence de 4%. Ce pourcentage est proche de celui de la littérature puisque la fréquence de cette délétion varie d'une étude à l'autre de 6 à 12 % des SMD [3,4,5].

Dans notre étude, l'analyse des caractéristiques épidémiologiques des patients (Tableau I) a montré que le syndrome 5q- constitue une pathologie du sujet âgé ; en effet, l'âge moyen des patients est de 55 ans au moment du diagnostic avec des extrêmes de 22 à 76 ans. 9 patients avaient plus de 50 ans et 3 patients seulement avaient moins de 50 ans. Nos résultats sont concordants avec ceux de la littérature qui considère que le syndrome 5q-, comme l'ensemble des SMD, est une pathologie du sujet âgé qui apparaît généralement après 60 ans et peut être observée chez les patients de moins de 50 ans dans 15% des cas.

La prédominance féminine constatée dans les différentes séries de la littérature, notamment celles de Mathew (SR (H/F) = 0,43) [6], et de Van Den Berghe (SR (H/F) = 0,33) [7], est confirmée par notre série ; tous nos patients sont de sexe féminin.

#### **Aspects cliniques**

Dans notre série, le syndrome anémique constitue le

motif de consultation le plus fréquent.

Les mêmes résultats sont rapportés dans la littérature et en particulier dans la série de Mathew, où 80% des patients sont dépendants de transfusions dès le moment du diagnostic [6]. Deux cas seulement ont présenté un syndrome hémorragique (purpura et métrorragies), par contre aucun malade n'avait un syndrome infectieux au moment du diagnostic.

Cette pauvreté des signes cliniques, dans notre série, concorde avec les données de la littérature sur le syndrome 5q-. En fait, ce syndrome se caractérise par des signes cliniques qui ne sont pas spécifiques et qui sont les conséquences des cytopénies sanguines [8] et par la rareté des manifestations infectieuses et hémorragiques [9].

La splénomégalie, rapportée dans 15 à 20% des cas de la littérature [9], a été retrouvée dans un seul cas dans notre série. Une particularité clinique est constatée dans notre analyse: le premier cas c'était celui d'une glossite, et le deuxième présentant une langue fissurée avec épigastalgies. Cette symptomatologie, habituelle dans les anémies mégalo-blastiques et après chimiothérapie cytotoxique, n'a pas été décrite dans la littérature.

#### **Anomalies de l'hémogramme**

Les résultats de l'ensemble des hémogrammes sont résumés dans le tableau II. L'anémie (Hb < 11,5 g/dL pour les femmes), constatée dans notre série, est de sévérité et de tolérance variable au moment du diagnostic. Le taux d'hémoglobine varie de 4 g/dL à 11 g/dL avec une moyenne de 6 g/dL.

L'anémie est macrocytaire (VGM > 100 fL) dans la majorité des cas (chez 7 patients) et arégénérative (réticulocytes < 120000/mm<sup>3</sup>). Ceci est concordant avec la littérature, puisque dans la série de Mathew, 2/3 des patients possédaient une macrocytose au moment du diagnostic [6] et dans celle de Lewis, l'anémie est macrocytaire dans 75% des cas [10].

Le taux de globules blancs varie de 1600 à 23400/mm<sup>3</sup>, avec une moyenne de 7387/mm<sup>3</sup>. Ce taux est normal dans 7 cas. Une leucopénie (GB < 4000/mm<sup>3</sup>) est détectée dans 3 cas, elle est modérée dans 2 cas et importante dans un seul cas. Une hyperleucocytose est également observée dans deux cas dans notre série. Ces résultats ne sont pas tout à fait concordants avec la littérature, puisque la leucopénie est rare dans le syndrome 5q-, et quand elle est présente, elle est plutôt modérée [11]. Parfois une hyperleucocytose modérée peut la remplacer. Lewis et al. [10], rapportent un cas de syndrome 5q-

associé à une hyperleucocytose élevée à 29700/mm<sup>3</sup>. L'analyse du taux des plaquettes a montré que le nombre de plaquettes varie de 21000 à 895000/ mm<sup>3</sup>. La thrombopénie (plaquettes < 150000/ mm<sup>3</sup>) est présente chez 5 patients, par contre la thrombocytose est observée dans deux cas seulement, pour les 5 autres cas le taux de plaquette est normal. Ceci s'oppose aux données de la littérature, en effet dans la série de Mathew, la thrombocytose est observée dans 49% des cas et la thrombopénie dans 18% des cas [6].

### Anomalies du myélogramme

Le tableau III résume les anomalies morphologiques décrites au myélogramme ainsi que les résultats de la coloration de Perls, le pourcentage de blastes médullaires et la classification FAB (Franco-Américano-Britannique).

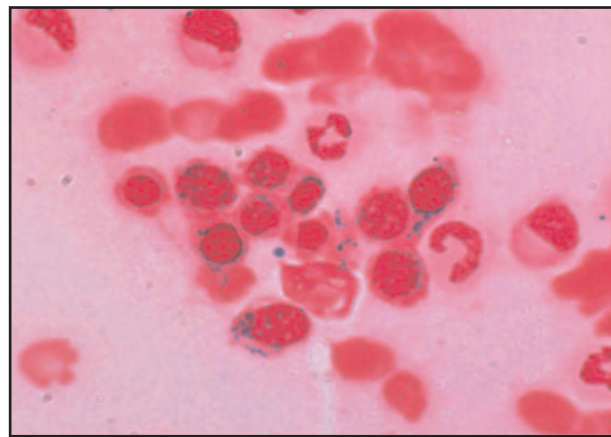
Dans la majorité des cas, la richesse médullaire est moyenne ou normale avec des signes de dysmyélopoïèse. La moelle est hypoplasique dans deux cas d'où le recours à une BOM. Des résultats similaires ont été rapportés dans les autres séries de la littérature. Dans l'étude de Mathew, 75% des cas présentent une moelle normo ou hyperplasique [6]. L'étude de Giagounidis et al. a montré que dans le syndrome 5q-, 20% des moelles ont été hypocellulaires, 40% étaient normocellulaires, et 40% hypercellulaires [12].

Contrairement aux autres SMD, l'érythroblastopénie était fréquente dans le syndrome 5q- [9,13]. Ceci n'était pas le cas dans notre série puisque le pourcentage d'érythroblastes est supérieur à 10% chez tous les patients.

Le myélogramme a révélé plusieurs signes de dysérythropoïèse. Les anomalies morphologiques les plus fréquentes au niveau des érythroblastes sont : fragmentation nucléaire, mégaloblastose avec asynchronisme de maturation nucléo-cytoplasmique, cytoplasme feuilleté et ponctuations basophiles.

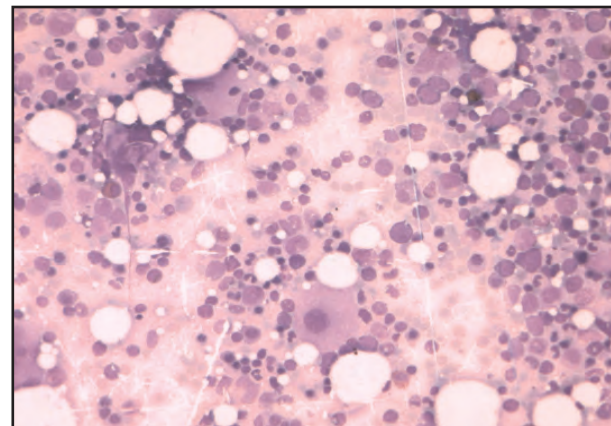
Dans notre étude, les sidéroblastes en couronne étaient présentes chez la patiente N° 3 (Figure 1). Dans la littérature, ceux-ci sont identifiés dans la moelle osseuse chez près de 25% des patients avec syndrome 5q-[11].

Le myélogramme montre également, dans la plupart des cas, des signes de dysgranulopoïèse. Les anomalies morphologiques observées sont une hyposegmentation des noyaux des polynucléaires et une hypogranulation du cytoplasme.



**Figure 1 : Sidéroblastes pathologiques possédant des grains de fer disposés en couronne/Patiente N°3 (Moelle/PERLS, GX100).**

La dysmégacaryopoïèse typique, avec des mégacaryocytes monolobés de petite taille (Figure 2), est rencontrée dans tous les cas avec dystrophie mégacaryocytaire. Cet aspect très caractéristique permet d'évoquer le diagnostic du syndrome 5q- [14].



**Figure 2 : Mégacaryocyte monolobé/Patiente N°3 (Moelle/MGG, GX40).**

Dans notre série, la dysmyélopoïèse multilignée est présente chez 8 patients avec atteinte des trois lignées dans 4 cas seulement.

Les données de l'hémogramme et du myélogramme permettent de classer les patients avec syndrome 5q- selon la classification FAB. Dans notre étude, 9 cas sont classés anémies réfractaires (AR), 2 cas sont classés anémies réfractaires avec excès de blastes (AREB) et un seul cas est classé anémie sidéroblastique idiopathique acquise (ASIA).L'étude de Mathew aboutit à des résul-

tats proches de la nôtre, 72% des cas sont classés AR et 16% AREB [6].

### Caryotype

L'étude cytogénétique a confirmé le diagnostic d'un SMD et a identifié le syndrome 5q- chez les 12 patients. Les résultats du caryotype sont résumés dans le tableau IV. L'analyse des caryotypes a révélé une délétion interstitielle et isolée au niveau du bras long du chromosome 5 avec une extension variable de la région délétée allant de q12 à q22 pour le point de cassure proximal et de q31 à q34 pour le point de cassure distal. Les bandes chromosomiques les plus fréquemment impliquées, dans notre étude, sont 5q12-14 au niveau proximal et 5q31-34 au niveau distal. Dans la littérature, le niveau de délétion proximal peut atteindre q11 et q35 pour le niveau distal [15]. Les bandes chromosomiques les plus impliquées sont 5q12-14 au niveau proximal et 5q31-33 au niveau distal [16]. La région commune de délétion du syndrome 5q- est située en 5q32-5q33.1 [17]. Cette région est fréquemment délétée chez nos patients (9 cas), ceci prouve l'implication de cette région dans la pathogénie du syndrome 5q-.

### La Biopsie Ostéomédullaire (BOM)

La BOM permet d'établir le diagnostic des SMD hypoplasiques en cas d'échec du myélogramme et elle caractérise mieux la dysmégacaryopoïèse que la cytologie [14,18]. Pour cette raison, la BOM a été pratiquée chez deux patients de notre série. Dans le premier (cas N°4), la BOM a montré une aplasie médullaire. Par contre dans le deuxième cas (cas N°12), le myélogramme initial était désertique et la BOM a été faite suite à la suspicion d'un SMD, elle a révélé une moelle osseuse de richesse estimée à 3, montrant une augmentation et une dystrophie mégacaryocytaire, sans blastose médullaire ni myélofibrose.

### Traitement

Le traitement de nos patients a été symptomatique (Tableau V), basé sur des transfusions de concentrés érythrocytaires en association à une vitaminothérapie dans la plupart des cas. Dans notre étude, tous les patients ont reçu des transfusions érythrocytaires répétées. Les besoins transfusionnels sont variables d'un patient à un autre et ils tendent à être majorés avec le temps. Les transfusions érythrocytaires améliorent de façon transitoire le taux d'Hb et les patients transfusés ont dans la majorité des cas un taux d'Hb inférieur à 10g/dL, ce qui est significativement asso-

cié à des symptômes du syndrome anémique : une fatigue, une diminution de la qualité de vie et probablement un excès d'accidents cardiovasculaires [13]. Le risque majeur lié aux transfusions répétées est la surcharge martiale avec hémochromatose transfusionnelle. Pour cette raison, la plupart de nos patients ont été traités par un chélateur de fer tel que le Desféral® (déféroxamine) administré par voie parentérale ou plus récemment par Exjade® (déférasirox) administrée par voie orale.

L'âge avancé de nos patients, la difficulté du dosage vitaminiq ue et l'aspect macrocytaire de l'anémie, sont les causes qui mènent les médecins à prescrire une vitaminothérapie (vitamine B12, vitamine B6, acide folique) dans la majorité des cas avec des résultats transitoires et aléatoires. Cette vitaminothérapie a permis une stabilisation de l'anémie sans qu'elle soit corrigée. Dans la série de Mathew, la vitamine B6 a été essayée chez 16 patients, dont un seul qui a répondu favorablement, mais la réponse était éphémère. L'anémie a été réfractaire à l'administration de la vitamine B12 toute seule [6].

Dans notre étude, le Nilevar® (noréthandrolone) a été prescrit chez 3 patients mais sans aucune nette amélioration. Tel était le cas de 13 patients de la série de Mathew, chez qui, les androgènes n'ont pas amélioré la thrombopénie ni la leucopénie et qui n'ont pas non plus réduit les besoins transfusionnels [6].

L'érythropoïétine humaine recombinante (hémax®), a été prescrite dans un seul cas de nos patients sans aucune amélioration de son anémie profonde. Dans l'expérience du groupe scandinave, les patients avec délétion 5q ont eu une réponse à l'érythropoïétine en moyenne identique à celle des autres SMD.

Ce groupe a montré que l'association érythropoïétine et G-CSF ou érythropoïétine et GM-CSF était plus efficace que l'érythropoïétine seule, puisqu'elle pouvait corriger l'anémie des SMD dans un tiers des cas environ. Les études publiées ne font pas état en détail des résultats chez les patients porteurs d'une délétion 5q [9].

Dans le cadre des études du GFM, chez 48 patients atteints de SMD avec del 5q traités par EPO ou darbepoïétine ± G-CSF, le taux de réponse était de 52 % dans les cas avec syndrome 5q isolé. Cependant, la durée médiane de réponse a été de 11 mois seulement, soit nettement plus courte que dans les autres SMD de faible risque (médiane 24 mois) [13].

Plusieurs études ont montré l'efficacité du lénalidomide dans le traitement du syndrome 5q-. List et al. [19] ont prouvé que le lénalidomide permettait d'obtenir une réponse érythroïde (majeure ou mineure) dans environ 50 % des SMD de faible risque dépendant des transfusions érythrocytaires et que cette réponse était particulièrement importante (83 % d'indépendance transfusionnelle obtenue) chez les patients avec délétion 5q. De plus, dans cette première expérience, des réponses cytogénétiques dont certaines complètes étaient observées. Malheureusement, le lénalidomide n'est pas encore utilisé dans notre hôpital pour le traitement du syndrome 5q-.

### Evolution et pronostic

Le syndrome 5q- a été considéré de bon pronostic. En effet, ceci a été noté au début lors de la description originale de ce désordre puis a été confirmé dans d'autres études [20]. Ce syndrome est associé à un meilleur pronostic par rapport aux autres sous-types de SMD [12]. Le tableau VI résume le pronostic et la survie des 12 cas. Le groupe de Düsseldorf a toutefois montré que la survie médiane des patients atteints du syndrome 5q- était significativement inférieure à celle d'une population de même âge et de même sexe, tant chez les femmes que chez les hommes [21]. Dans notre série, 6 patients sont encore vivants et poursuivent leur traitement dans l'hôpital du jour d'hématologie du CHU Farhat Hached, et les autres cas sont perdus de vue. La survie médiane des SMD avec del 5q isolée est de l'ordre de 5 ans, un grand nombre de décès étant lié à une cause intercurrente chez ces patients habituellement âgés [9]. La survie médiane de nos 12 patients est de 2,5 ans.

Un calcul du score IPSS (International Prognosis Scoring System) est effectué pour chaque patient de notre série. Le score IPSS est zéro dans 3 cas avec un niveau de risque faible et une médiane de survie de 2 ans et de 0,5 dans 9 cas avec un niveau de risque intermédiaire 1 et une médiane de survie de 3 ans. Dans le syndrome 5q- le taux de transformation en LAM est faible, il est situé entre 16 et 25% selon les études [5,22,23]. Dans la nôtre, aucun cas n'a eu une transformation en LAM.

La description de la délétion 5q en 1974, a permis la définition du syndrome 5q-, assez bien caractérisé sur le plan clinique et hématologique. Le syndrome 5q- est un paradigme unique de SMD défini par la corrélation entre la cytologie et la cytogénétique et le faible risque d'évolutivité clinique. Il constitue une entité à part dans la classification OMS lorsque le pourcentage de blastes médullaires n'excède pas 5 % et l'anomalie chromoso-

mique 5q- est isolée. Même si son pronostic est favorable, l'espérance de vie est inférieure par rapport à celle de la population générale, et la charge en est importante en termes de transfusions érythrocytaires. Elle est associée à une survie prolongée ainsi qu'à un taux faible de transformation en LAM.

La compréhension de la physiopathologie du syndrome 5q- a fait un grand bond en avant : l'identification d'un modèle d'haplo-insuffisance et de plusieurs gènes candidats permet d'établir un modèle physiopathologique de cette maladie. L'anémie des patients porteurs d'un SMD avec délétion 5q et un score IPSS faible ou intermédiaire (1), répond dans 75 % des cas environ au lénalidomide [24]. Actuellement, bien que remarquablement efficace, ce produit ne peut être prescrit qu'en utilisation hors AMM, à une dose nettement inférieure à celle prescrite dans le myélome. Malheureusement, le lénalidomide n'est pas encore utilisée dans nos hôpitaux pour le traitement du syndrome 5q-.

### CONCLUSION

Nos données confirment les observations antérieures qui montrent que le syndrome 5q- est une pathologie du sujet âgé, prédominant chez les femmes. Il est caractérisé par une anémie macrocytaire, une dysmégacaryopoïèse spécifique, une délétion isolée du bras long du chromosome 5, un bon pronostic et un faible taux de transformation en LAM.

Cependant, il existe une hétérogénéité dans la présentation clinique ainsi que les caractéristiques histopathologiques de cas décrits dans la littérature par rapport à notre étude. Pour des raisons obscures, dans notre population, tous les patients sont de sexe féminin.

Une particularité clinique est constatée chez nos patients ; c'est la présence d'un cas de glossite et d'un cas d'épigastalgies. Sur le plan hématologique, la leucopénie rare dans le syndrome 5q-, est présente chez 3 patients. La thrombocytose présente dans 30 à 50 % des cas de la littérature, n'est observée que dans 2 cas seulement dans notre série, par contre la thrombopénie qui est peu fréquente est trouvée chez 5 patients.

Chez nos patients, le profil du syndrome 5q- est différent de celui de la littérature, cette différence est due au nombre de patients limité (12 cas dans une période de 17 ans) vue la rareté de ce syndrome. Notre série réduite doit être complétée par une série plus large pour mieux étudier les caractéristiques du syndrome 5q- dans la population tunisienne.



**Tableau I: Caractéristiques épidémiologiques et cliniques des 12 patients atteints de syndrome 5q-**

| Cas N° | Age (ans) | Sexe    | Circonstances de découverte   | Date de diagnostic |
|--------|-----------|---------|---|--------------------|
| 1      | 30        | Féminin | Syndrome anémique   | 29/06/1995         |
| 2      | 69        | Féminin | Syndrome anémique   | 01/03/1996         |
| 3      | 24        | Féminin | Syndrome anémique fonctionnel : asthénie, dyspnée d'effort, céphalées.      | 29/04/1997         |
| 4      | 22        | Féminin | Syndrome anémique : pâleur, asthénie, dyspnée d'effort. Métrorragies.       | 05/10/2006         |
| 5      | 76        | Féminin | Syndrome anémique fonctionnel : asthénie profonde et dyspnée.               | 19/06/2008         |
| 6      | 55        | Féminin | Hépatosplénomégalie   | 18/09/2008         |
| 7      | 76        | Féminin | Purpura au niveau du dos des mains.   | 06/04/2009         |
| 8      | 61        | Féminin | Syndrome anémique fonctionnel. Langue fissurée, épigastralgies.             | 03/08/2009         |
| 9      | 70        | Féminin | NFS systémique réalisée lors d'une consultation en endocrinologie Glossite. | 13/01/2010         |
| 10     | 54        | Féminin | Pâleur conjonctivale et cutanéomuqueuse, asthénie.                          | 27/11/2010         |
| 11     | 62        | Féminin | Syndrome anémique fonctionnel : céphalées et asthénie.                      | 14/06/2011         |
| 12     | 65        | Féminin | Syndrome anémique aigu : asthénie avec vertige d'aggravation progressive.   | 27/09/2011         |



**Tableau II : Résultats de l'hémogramme des 12 patients atteints de syndrome 5q-**

| Cas N° | Hb (g/dL) | VGM (fL) | Réticulocytes (/mm <sup>3</sup> ) | Plaquettes ) (/mm <sup>3</sup> ) | Globules blancs (/mm <sup>3</sup> ) | Polynucléaires (/mm <sup>3</sup> ) |
|--------|-----------|----------|-----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| 1      | 8         | 111      | Non fait                          | 362000                           | 4400                                | 2600                               |
| 2      | 4         | 114      | Non fait                          | 310000                           | 3150                                | 945                                |
| 3      | 5,6       | 119,6    | 95900                             | 62000                            | 4400                                | 2186                               |
| 4      | 6,4       | 89       | 3740                              | 21000                            | 1600                                | 176                                |
| 5      | 5,3       | 101,5    | Non fait                          | 895000                           | 19800                               | 14058                              |
| 6      | 11        | 71       | Non fait                          | 53000                            | 23400                               | 15912                              |
| 7      | 4,7       | 121      | 53720                             | 65000                            | 6900                                | 4761                               |
| 8      | 6,5       | 97       | 28140                             | 150000                           | 4000                                | 1760                               |
| 9      | 6,6       | 101,6    | 29440                             | 452000                           | 6900                                | 4347                               |
| 10     | 5,8       | 96       | 56960                             | 851000                           | 4700                                | 3478                               |
| 11     | 4,6       | 100,6    | 48191                             | 115000                           | 3600                                | 2772                               |
| 12     | 4         | 99       | 91840                             | 151000                           | 5800                                | 3596                               |

**Tableau III : Résultats du myélogramme des 12 patients atteints de syndrome 5q-.**

| N° | Richesse       | Lignée érythroblastique |   |  | Lignée granuleuse |  |             | Lignée mégacaryocytaire |   |                    |
|----|----------------|-------------------------|---|--|-------------------|--|-------------|-------------------------|---|--------------------|
|    |                | Eb (%)                  | Signes de dysérythropoïèse  | Coloration de Perls  | Gr (%)            | Signes de dysgranulopoïèse   | Blastes (%) | Mg                      | Signes de dysmégacaryopoïèse                | Classification FAB |
| 1  |                |                         | Signes de dysérythropoïèse  |  |                   |  | 5           |                         |   | AR                 |
| 2  |                |                         | Signes de dysérythropoïèse  |  |                   |  | <5          |                         |   | AR                 |
| 3  | Normale        | 28                      | Mégaloblastose avec asynchronisme de maturation N/C   | Présence de sidéroblastes contenant plusieurs granulations ferriques avec des sidéroblastes en couronne (>15%) | 61                |  | 0           | ++                      | Mégacaryocytes monolobés, de petite taille  | ASIA               |
| 4  | Frottis pauvre | 14                      | Signes de dysérythropoïèse  |  | 34                |  | 1           |                         | Absents                                     | AR                 |
| 5  | Normale        | 19                      | Noyau fragmenté<br>Cytoplasme feuilleté<br>Ponctuations basophiles.   | Fer extra érythroblastique +++<br>Quelques sidéroblastes à un ou plusieurs grains de fer.                      | 70                | Discret gigantisme cellulaire.<br>Tendance à l'hypogranulation.          | 2           | +++                     | Mégacaryocytes monolobés, de petite taille. | AR                 |
| 6  |                |                         |   |  |                   |  | 5           |                         |   | AR                 |
| 7  | Moyenne        | 54                      | Erythroblastose avec mégaloblastose.  | Sidéroblastes normaux et sidéroblastes à plusieurs grains de fer+<br>ASPC                                      | 37                | Asynchronisme de maturation.<br>Gigantisme cellulaire.                   | 2           | ++                      |   | AR                 |
| 8  | Normale        | 25                      | Noyau fragmenté<br>Cytoplasme feuilleté<br>Ponctuations basophiles.   | Fer extra érythroblastique +<br>Quelques sidéroblastes à plusieurs grains.                                     | 55                | Hypogranulation et hyposegmentation des PNN.                             | 4           | +++                     | Mégacaryocytes monolobés, de petite taille. | AR                 |
| 9  | Moyenne        | 14                      |   | Fer extra érythroblastique +<br>Quelques sidéroblastes à plusieurs grains.                                     | 68                | Tendance à l'hyposegmentation des PNN.                                   | 5           | ++                      | Mégacaryocytes monolobés de petite taille.  | AR                 |
| 10 | Moyenne        | 10                      |   | Fer extra érythroblastique ++<br>des PNN.  | 59                | Hypogranulation.<br>Hyposegmentation                                     | 7           | ++                      | Mégacaryocytes monolobés, de petite taille. | AREB               |
| 11 | Moyenne        | 26                      | Cytoplasme feuilleté<br>Contenant parfois des Ponctuations basophiles.<br>Noyau parfois fragmenté avec nombreuses images mitotiques | Fer interstitiel +<br>Présence de quelques sidéroblastes contenant   | 48                | Hypogranulation du cytoplasme avec présence 1 à 3 grains de fer.<br>ASPC | 7           | +++                     | Formes monolobées. de vacuoles.             | AREB               |
| 12 | Faible         | 21                      | Cytoplasme feuilleté<br>Fragmentation nucléaire<br>Ponctuations basophiles.   | Sidéroblastes à plusieurs grains de fer<br>ASPC  | 56                | Hyposegmentation nucléaire.  | 4           | +                       | Formes monolobées<br>Micromégacaryocytes    | AR                 |

**Eb** : Erythroblastes, **Gr** : Granuleux, **Mg** : Mégacaryocytes, **ASPC** : Absence de sidéroblastes pathologiques en couronne, **N/C** : Noyau/Cytoplasme.

**AR** : Anémie réfractaire, **AREB** : Anémie réfractaire avec excès de blastes, **ASIA** : Anémie sidéroblastique idiopathique acquis

**Tableau IV : Résultats du caryotype médullaire.**

| <b>Cas N°</b> | <b>Nombre de mitoses analysées</b> | <b>Nombre de mitoses anormales</b> | <b>Type d'anomalie</b> |
|---------------|------------------------------------|------------------------------------|------------------------|
| 1             | -                                  | -                                  | del(5) (q22, q33)      |
| 2             | -                                  | -                                  | del(5) (q14, q34)      |
| 3             | 18                                 | 4                                  | del(5) (q22, q33)      |
| 4             | 16                                 | 11                                 | del(5) (q13, q21)      |
| 5             | -                                  | -                                  | del (5q)               |
| 6             | 15                                 | 15                                 | del(5) (q13, q34)      |
| 7             | 15                                 | 3                                  | del(5) (q14, q34)      |
| 8             | 15                                 | 12                                 | del(5) (q13, q34)      |
| 9             | 20                                 | 20                                 | del(5) (q12, q31)      |
| 10            | 20                                 | 18                                 | del(5) (q13, q33)      |
| 11            | 16                                 | 15                                 | del(5) (q13, q34)      |
| 12            | 15                                 | 6                                  | del(5) (q14, q34)      |

**Tableau V : Traitement et évolution du syndrome 5q- dans les cas étudiés.**

| <b>Cas N°</b> | <b>Traitement</b>   | <b>Evolution</b>                                   |
|---------------|---|--|
| 1             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vitamine B12</li> <li>• Transfusions sanguines</li> </ul>  | Etat stable  |
| 2             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fer</li> <li>• Vitamine B12</li> <li>• Transfusions sanguines</li> <li>• Déféroxamine</li> <li>• Déférasirox</li> </ul>              | Etat stable, syndrome anémique fonctionnel         |
| 3             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vitamine B12</li> <li>• Transfusions sanguines</li> <li>• Déférasirox</li> </ul>   | Etat stable  |
| 4             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Transfusions sanguines</li> <li>• Déféroxamine</li> <li>• Déférasirox</li> </ul>   | Etat stable  |
| 5             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Fer</li> <li>• Transfusions sanguines</li> <li>• Déféroxamine</li> <li>• Déférasirox</li> </ul>                                      | Etat stable avec quelques gingivorragies nocturnes |
| 6             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vitamine B12</li> <li>• Transfusions sanguines</li> <li>• Erythropoïétine humaine recombinante alfa</li> </ul>                       | -  |
| 7             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Transfusions sanguines et plaquettaires</li> <li>• Noréthandrolone</li> <li>• Déféroxamine</li> <li>• Déférasirox</li> </ul>         | Etat stable  |
| 8             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Vitamine B6</li> <li>• Acide folique</li> <li>• Transfusions sanguines</li> <li>• Noréthandrolone</li> <li>• Déféroxamine</li> </ul> | -  |
| 9             | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Transfusions sanguines</li> <li>• Acide folique</li> <li>• Noréthandrolone</li> </ul>  | -  |
| 11            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Transfusions sanguines et plaquettaires</li> <li>• Fer</li> <li>• Hydroxycarbamide</li> <li>• Allopurinol</li> </ul>                 | -  |
| 12            | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Traitement symptomatique</li> </ul>  | Etat stable pendant 4 ans                          |

**Tableau VI: Pronostic et survie des 12 patients atteints de syndrome 5q-**

| Cas N° | Score IPSS<br>(International<br>Prognosis<br>Scoring System) | Médiane de survie<br>théorique( années) | Statut        | Date de la<br>dernière NFS | Survie<br>(années) |
|--------|--|---|---------------|----------------------------|--------------------|
| 1      | 0,5  | 3,5                                     | -             | -                          | -                  |
| 2      | 0,5  | 3,5                                     | Perdue de vue | -                          | -                  |
| 3      | 0,5  | 3,5                                     | Perdue de vue | -                          | -                  |
| 4      | 0,5  | 3,5                                     | Vivant        | 11/12/2012                 | 6,2                |
| 5      | 0  | 5,7                                     | Perdue de vue | 25/08/2009                 | 1,2                |
| 6      | 0,5  | 3,5                                     | Perdue de vue | 06/07/2010                 | 1,10               |
| 7      | 0,5  | 3,5                                     | Perdue de vue | 20/09/2010                 | 1,6                |
| 8      | 0  | 5,7                                     | Vivant        | 21/01/2013                 | 3,6                |
| 9      | 0,5  | 3,5                                     | Vivant        | 16/01/2013                 | 3                  |
| 10     | 0,5  | 3,5                                     | Vivant        | 17/01/2013                 | 2,2                |
| 11     | 0,5  | 3,5                                     | Vivant        | 31/01/2013                 | 1,7                |
| 12     | 0  | 5,7                                     | Vivant        | 11/01/2013                 | 1,3                |



## RÉFÉRENCES

1. SIGURET V , BOUHADIBA S. Syndromes myélodysplasiques : épidémiologie, éléments diagnostiques et de stratégies thérapeutiques. *Feuill Biol* 2009; 288:7-13.
2. CLASSENS YE , FONTENAY- ROUPIE M. Physiopathologie des syndromes myélodysplasiques. *Pathol Biol* 2002; 50: 261-7.
3. GREENBERG P, COX C, LE BEAU MM, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997; 89(6):2079-88.
4. HAASE D, GERMING U, SCHANZ J, et al. New insights into the prognostic impact of the karyotype in MDS and correlations with subtypes: evidence from a core dataset of 2124 patients. *Blood* 2007; 110:4385-95.
5. SOLE F, LUNO E, SANZO C, et al. Identification of novel cytogenetic markers with prognostic significance in a series of 968 patients with primary myelodysplastic syndromes. *Haematologica* 2005; 90:1168-78.
6. MATHEW athew P, TEFFERI efferi A, DEWALD ewald GW, et al. The 5q- syndrome: a single-institution study of 43 consecutive patients. *Blood* 1993; 81:1040-5.
7. VAN DEN BERGHE H, VERMAELEN K, MECUCCI C, et al. The 5q-anomaly. *Cancer Genet Cytogenet* 1985; 17:189-255.
8. FENAUX P. Quels sont les manifestations cliniques des syndromes myélodysplasiques ? In : Fenaux P, Dreyfus F, dir. Les syndromes myélodysplasiques. Paris: John Libbey Eurotext; 2000.53-4.
9. FENAUX P, LAI JL, PREUDHOMME C. Syndromes myélodysplasiques et délétion 5q. *Hématologie* 1995 ; 1(1):35-43.
10. LEWIS S, OSCIER D, BOULTWOOD J, et al. Hematological features of patients with myelodysplastic syndromes associated with a chromosome 5q deletion. *Am J Hematol* 1995 Jul; 49(3):194-200.
11. BOULTWOOD J , LEWIS S , WAINCOAST JS. The 5q- syndrome. *Blood* 1994; 84(10):3253-60.
12. GIAGOUNIDIS AA, GERMING U, HAASE S, et al. Clinical, morphological, cytogenetic, and prognostic features of patients with myelodysplastic syndromes and del(5q) including band q31. *Leukemia* 2004; 18(1):113-9.
13. KELAIDI NC, DA ROCHA AO, FENAUX P. Syndrome 5q- : caractéristiques hématologiques, physiopathologie et traitement. *Hémologie* 2008 ; 14(4):259-69.
14. DREYFUS F, GUESNU M, PICARD F, et al. Comment diagnostiquer les syndromes myélodysplasiques? Quels examens effectuer ? In : Fenaux P, Dreyfus F, dir. Les syndromes myélodysplasiques. Paris: Jhon Libbey Eurotext, 2000 : 55-61.
15. NAGARAJAN L, ZAVADIL J, CLAXTON D, et al. Consistent loss of the D5S89 locus mapping telomeric to the interleukin gene cluster and centromeric to EGR-1 in patients with 5q- chromosome. *Blood* 1994; 83:199-208.
16. VINCENT L. Erythropoïèse des syndromes myélodysplasiques : cas du syndrome 5q-. *Hématologie* 2010 ; 16 Suppl 3:S17-20.
17. BOULTWOOD J, FIDLER C, STRICKSON AJ, et al. Narrowing and genomic annotation of the common deleted region of the 5q- syndrome. *Blood* 2002; 99:4638-41.
18. DIEBOLD J, LE TOURNEAU A, JO MOLINA T, et al. La biopsie médullaire dans les syndromes myélodysplasiques. *Rev Fr Lab* 2011;(428):65-72.
19. LIST A, KURTIN S, ROE DJ, et al. Efficacy of lénalidomide in myelodysplastic syndromes. *N Engl J Med* 2005 ; 352 :549- 57.
20. MAHMOUD T, ROBINSON WA, HAMSTRA ED, et al. Macrocytic anemia, thrombocytosis and nonlobulated megacaryocytes, the 5q- syndrome, a distinct entity. *Am J Med* 1979; 68:946-9.
21. GIAGOUNIDIS AA, GERMING U, AUL C. Biological a and prognostic significance of chromosome 5q deletions in myeloid malignancies. *Clin Cancer Res* 2006; 12:5-10.
22. GREENBERG P, COX C, LE BEAU MM, et al. International scoring system for evaluating prognosis in myelodysplastic syndromes. *Blood* 1997; 89(6):2079-88.
23. GERMING U, LAUSEKER M, HILDEBRANDT B, et al. Survival, prognostic factors, and rates of leukemic transformation in a multicenter study of 303 untreated patients with MDS and Del(5q) [abstract]. *Blood(ASH Annual Meeting Abstracts)* 2009;114:945.
24. ADES L, FENAUX P. Le syndrome 5q-. *Rev Prat* 2010 ; 60 :1420-2.

## ARTICLE ORIGINAL

# Le test de génération de thrombine: un test global d'exploration des états d'hypercoagulabilité

## Thrombin generation test: a global test for exploration of hypercoagulable states

Mouna Sassi (1),  
Taher Chakroun (2)  
Hassine Mohsen (3)  
Hamouda Babba (1)

(1) Laboratoire de biologie du  
Centre de Maternité et de  
Néonatalogie, Monastir

(2) Centre Régional de  
Transfusion Sanguine,  
Sousse

(3) Laboratoire d'hématologie  
et banque du sang,  
CHU Fattouma  
Bourguiba, Monastir

### Résumé

Les limites des tests classiques de la coagulation dans l'évaluation des états d'hypercoagulabilité sont bien connues. En effet, les mesures sont interrompues dès l'apparition de 5% de la quantité totale de thrombine formée. Cependant, le test de génération de thrombine offre une mesure globale du potentiel hémostatique. L'apparition de la thrombographie calibrée et automatisée a donné à ce test une nouvelle vie dans l'arsenal biologique. La mesure de la cinétique de la génération de thrombine permet un diagnostic précoce des états d'hypercoagulabilité et une meilleure gestion du risque thrombotique et de la prescription des anticoagulants.

**Mots clés :** Tests classiques - génération de thrombine - thrombographie calibrée et automatisée – hypercoagulabilité.

### Abstract

The limitations of conventional coagulation tests in the evaluation of hypercoagulable states are well known. Indeed, the measurements are interrupted when 5% of the total amount of thrombin is formed. However, the thrombin generation test provides an overall measure of the hemostatic potential. The implementation of the Calibrated Automated Thrombography gave it a new life in the biological arsenal. Measuring the kinetics of thrombin generation allows early diagnosis of hypercoagulable states and better management of thrombotic risk and anticoagulants prescription.

**Keywords:** Conventional tests - thrombin generation – Calibrated Automated Thrombography -hypercoagulability

## INTRODUCTION

La génération de thrombine est initiée par le complexe facteur tissulaire-facteur VII activé (FT-FVIIa) dans le schéma moderne de la coagulation. Contrairement à la théorie classique schématisée sous la forme « d'une cascade en Y », la théorie moderne de la coagulation est plus représentative des phénomènes in vivo (1). Le caillot de fibrine apparaît lorsque seulement 5 % de thrombine est générée dans le milieu. Or, la génération de thrombine se poursuit, s'amplifie et la thrombine formée est intimement liée au caillot (1,2). De nos jours, le monde de l'hémostase est en perpétuel mouvement avec un développement croissant des outils diagnostiques qui sont de plus en plus perfectionnés en particulier dans le domaine de l'exploration des états d'hypercoagulabilité (2).

### 1- Limites des tests classiques de la coagulation

Le temps de Quick (TQ) et le temps de céphaline avec activateur (TCA) sont les tests d'hémostase les plus demandés en routine au sein d'un laboratoire de biologie médicale. Ces deux tests sont sensibles à la diminution de l'activité des facteurs de la coagulation et ils conservent une place importante dans l'évaluation du risque hémorragique clinique. En outre, le TQ est utilisé pour la surveillance biologique du traitement par les antivitamines K et le TCA est aussi le principal moyen de surveillance biologique du traitement par l'héparine non fractionnée. Cependant, les limites de ces deux tests globaux dans l'évaluation des états d'hypercoagulabilité et du risque thrombotique sont indiscutables du fait des raisons suivantes (1,3,4):

-Le principe de l'exploration de la coagulation par le TQ et le TCA est fondé sur la théorie des « deux voies en Y ». Ce schéma permet de mieux identifier les facteurs explorés par tel ou tel test. En revanche, aucun des deux tests ne prend en considération l'activité des inhibiteurs physiologiques dans le processus de la coagulation.

-Le TQ et le TCA mesurent exclusivement le temps de latence entre l'initiation de la coagulation et la formation du caillot. Or, la génération de thrombine continue bien après la formation du caillot.

-Le TQ et le TCA sont mesurés en utilisant des réactifs déclencheurs à des concentrations largement supérieures aux taux rencontrés en physiologie. Par consé-

quent, le système d'étude de la coagulation par le TQ et le TCA est très loin de la physiologie.

-Enfin, le caractère statique du plasma au cours de la mesure des temps de la coagulation est en opposition avec le caractère dynamique de la coagulation in vivo. Ainsi, une critique importante peut être faite aux temps classiques de la coagulation quant à leur pertinence clinique, leur performance dans le domaine des états d'hypercoagulabilité et de leur relation avec la réalité physiopathologique. Nous avons incontestablement besoin de mettre en lumière des outils biologiques de plus en plus perfectionnés qui assouvissent cette quête de diagnostic biologique précoce et approprié des états d'hypercoagulabilité afin d'optimiser la gestion du risque thrombotique et la prescription des anticoagulants (1,4).

### 2-Historique du test de génération de thrombine

Ces dernières décennies ont été marquées par le retour sur scène du test de génération de thrombine (TGT) et par un engouement croissant pour ce dernier. En effet, ce test a été créé pour la première fois en 1953 à Oxford (4-6). A l'époque, l'étude de la génération de thrombine était particulièrement longue utilisant du sang total ou du plasma défibriné et un substrat chromogénique « rapide » ayant une bonne affinité pour la thrombine permettant la mesure de la concentration en thrombine. Cette technique était par conséquent réservée aux équipes de recherche. Au milieu des années 1980, le Professeur Hemker et ses collègues ont réussi à donner une seconde vie à ce test en le rendant plus facile à performer (7-9). Grâce à l'introduction d'un substrat chromogénique « lent », l'enregistrement continu de la génération de thrombine et l'automatisation de la méthode sont devenus possibles. Un logiciel informatique évalue au fur et à mesure la quantité de thrombine générée en chaque moment du processus de la coagulation et calcule les paramètres du TGT. Toutefois, la méthode de génération de thrombine avec un substrat chromogénique « lent » a deux limites non pour autant négligeables : le plasma doit être impérativement pauvre en plaquettes et défibriné. Pendant ces dernières années, l'équipe de Hemker a remplacé le substrat chromogénique par un substrat fluorogénique lent ce qui a permis de mesurer la génération de thrombine en présence des plaquettes et dans du plasma non défibriné. Cette inno-

vation a donné naissance au Calibrated Automated Thrombography (CAT) ou thrombographie calibrée et automatisée, qui est en fait d'utilisation simple, reproductible et réalisable aussi bien sur du plasma pauvre en plaquettes (PPP) que sur du plasma riche en plaquettes (1,10).

### 3-Principe de la thrombographie calibrée et automatisée dans un PPP et paramètres du TGT

#### 3-1-Principe de la thrombographie calibrée et automatisée dans un PPP

Le CAT permet l'analyse simultanée de plusieurs échantillons à l'aide d'un fluoromètre et d'un logiciel Thrombroscope® qui transforme l'intensité de la fluorescence en concentration de thrombine. Les concentrations du FT et des phospholipides (PL) additionnés au PPP pour la mesure de la génération de thrombine ont été particulièrement standardisées en prenant en compte les concentrations optimales en FT et en PL reproduisant le plus fidèlement l'activation de la coagulation en termes d'initiation et d'amplification et se rapprochant au mieux des conditions physiologiques (7,10). Les mesures sont effectuées dans une plaque type plaque ELISA. La génération de thrombine est déclenchée par l'ajout d'une solution contenant du CaCl<sub>2</sub> et d'un substrat fluorogénique spécifique de la thrombine (Z-Gly-Gly-Arg-Amino-Méthyl Coumarine). Ce substrat a une faible affinité pour la thrombine (substrat « lent »), ce qui permet l'évaluation de la capacité enzymatique de la thrombine pendant une longue période. Ainsi, la méthode CAT nous permet d'analyser l'ensemble des phases de la génération de thrombine (initiation, propagation et inhibition) ainsi que l'intégralité du « travail enzymatique » fait par la thrombine pendant sa présence sous forme active. En effet, le substrat fluorogénique émet un signal fluorescent lors de son hydrolyse par la thrombine. Ce signal est directement lié à la quantité de thrombine présente dans le milieu (1,6,8,10). En parallèle avec chaque puits de mesure correspondant à un PPP étudié, on associe un puits dans lequel on ajoute au PPP un calibrateur plutôt que le réactif contenant le mélange de FT et de PL additionné au puits de mesure. Dans le puits calibrateur, on n'ajoute donc pas d'activateur de la coagulation. Le calibrateur consiste, en effet, en thrombine liée à l' $\alpha$ 2-macroglobuline (Thrombine - $\alpha$ 2M). C'est

une forme de thrombine qui n'est pas inhibée par les inhibiteurs de la coagulation. Dans ce puits, le substrat fluorogénique est converti de façon constante par le calibrateur ce qui donne initialement un tracé linéaire de la fluorescence dont la pente est utilisée pour convertir les données brutes de la fluorescence en concentration de thrombine (nM). Cependant, à un certain moment, le tracé n'est plus linéaire essentiellement à cause de l'effet filtre, de l'usure des lampes et de la consommation de substrat. Cette déviation de la linéarité est quantifiée par le logiciel et elle est utilisée pour corriger la fluorescence dans le puits de mesure. D'autre part, le signal erroné de la fluorescence engendré par le complexe Thrombine- $\alpha$ 2M dans le puits de mesure est soustrait grâce à un algorithme mathématique intégré dans le logiciel informatique (3,6,11).

De ce fait, la mesure de la cinétique de la génération de thrombine in vitro grâce à un calibrateur et un substrat fluorogénique spécifique de la thrombine couplée à l'analyse informatisée de différents paramètres a redonné à ce test une nouvelle vie dans l'arsenal biologique.

#### 3-2-Paramètres du TGT

Le TGT mesure, après un temps de latence, la génération d'une quantité croissante de thrombine jusqu'à l'atteinte d'un pic, suivie d'une décroissance relative à la neutralisation progressive de la thrombine par ses inhibiteurs physiologiques. Le tracé obtenu pour chaque couple (échantillon, calibrateur) est appelé « thrombogramme » (Figure 1 (6)). Les différents paramètres du thrombogramme sont (1,3,6,10) :

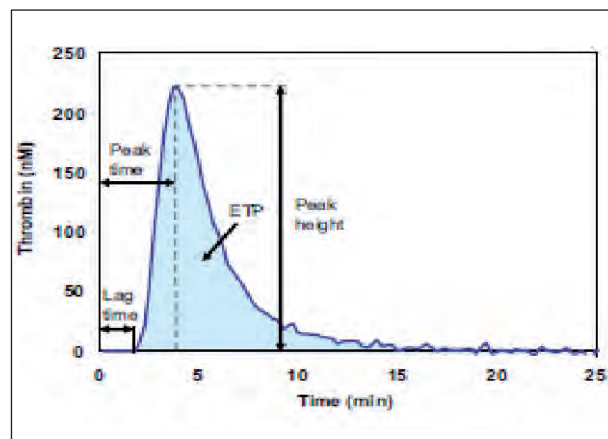


Figure 1. Le profil de génération de thrombine et les paramètres du thrombogramme (6)

- lag-time : temps de latence représentant la phase d'initiation de la génération de thrombine et correspondant aux temps de la coagulation classiques mesurés au laboratoire, exprimé en minutes (min) ;
- ttPeak (time to peak ou Peak Time) : temps nécessaire pour atteindre la concentration maximale de thrombine, exprimé en min;
- Peak (ou Peak height) : concentration maximale de thrombine générée, exprimée en nM ;
- ETP (Endogenous Thrombin Potential) : aire sous la courbe correspondant au travail enzymatique de la thrombine générée, exprimé en nMxmin;
- MRI (Mean Rate Index) : vélocité de la phase de propagation traduisant la vitesse de la génération de thrombine, calculée par la formule :  $MRI = Peak / (ttPeak - lag-time)$  et exprimée en nM/min.

D'une façon générale, les paramètres chronométriques (lag-time et ttPeak) sont sensibles à la variation de la quantité de FT présente dans l'échantillon étudié ou apporté par le réactif. Cependant, le Peak, le MRI et l'ETP sont influencés par la quantité de PL présente dans le système expérimental. La thrombographie fait actuellement l'objet de tentatives de standardisation. En effet, la standardisation de la méthode est nécessaire afin d'utiliser cette technique dans les études cliniques et afin de pouvoir comparer les résultats de différentes équipes partout dans le monde (1,10).

#### 4-Pertinences cliniques du TGT et états d'hypercoagulabilité

Le TGT offre une mesure globale et directe du potentiel hémostatique (8,12). Sa pertinence a été évaluée dans différents domaines. Parmi les applications actuelles du TGT, on peut rapporter les axes suivants (1,9,13):

- Appréciation du risque hémorragique et surveillance de l'efficacité du traitement de substitution ;
- Détection des états d'hypercoagulabilité et appréciation du risque thrombotique encouru ;
- Evaluation de l'effet inhibiteur de différents anticoagulants et détermination de leurs mécanismes d'action.

La maladie thromboembolique veineuse (MTEV) constitue un véritable fléau dans la société à cause de la prise en charge thérapeutique et prophylactique parfois lourde à assurer. Les anomalies biologiques en cause sont constitutionnelles, acquises ou mixtes. Cependant,

la présence d'anomalies biologiques ne signifie pas une expression ou exposition clinique systématique. En effet, la MTEV est favorisée par des facteurs favorisants environnementaux tels que les traitements hormonaux, la grossesse, la maladie cancéreuse ou la chirurgie (14). Une manière d'aborder les états d'hypercoagulabilité est l'exploration de la génération de thrombine in vivo par la mesure des fragments 1+2 de la prothrombine, les complexes thrombine-antithrombine, les D-dimères (DDi) ou les monomères de fibrine. Les DDi est le seul de ces paramètres à être pratiqué en routine dans de nombreux laboratoires. Il est bien établi que les DDi ont une valeur prédictive négative très élevée permettant d'écarter un épisode thrombotique veineux. En revanche, différentes situations physiologiques et pathologiques entraînent une augmentation non spécifique des DDi comme l'âge, la grossesse, la chirurgie, la période post-opératoire, le syndrome inflammatoire et le cancer (4). Par ailleurs, le TGT mesure la cinétique de la génération de thrombine in vitro en mimant ce qui se passe in vivo ce qui permet de détecter les états d'hypercoagulabilité, résultant de l'association entre des anomalies biologiques et des situations pathologiques ou physiologiques propices aux thromboses, de prédire l'exposition à un risque thrombotique accru, de permettre une prise en charge précoce des patients et de démarrer une thromboprophylaxie au bon moment et adaptée au profil du patient. Un profil de génération de thrombine en faveur d'un état d'hypercoagulabilité est généralement caractérisé par une accélération de la génération de thrombine, ainsi qu'une augmentation de la concentration maximale de thrombine et/ou du travail enzymatique de la thrombine (3,13).

#### CONCLUSION

Le CAT a redonné au TGT une nouvelle vie dans l'arsenal biologique. Il a aujourd'hui de plus en plus d'adeptes convaincus par une place très importante dans l'appréciation du risque thrombotique et dans l'orientation des décisions thérapeutiques et prophylactiques. En effet, le TGT est un test sensible aux états d'hypercoagulabilité qui permet la surveillance des patients à haut risque thrombotique et qui permet une prise en charge précoce et personnalisée des patients en fonction de leur statut initial (8,13).



## RÉFÉRENCES

1. Gerotziapas GT. Le test de génération de thrombine. Un test utile pour la recherche et nécessaire pour une exploration moderne de l'hémostase. *Bio Tribune Mag* 2007 ; 24 : 37-43.
2. Butenas S, Mann K. *Blood coagulation. Biochemistry* 2002; 67: 3-12.
3. Al Dieri R, Laat B, Hemker HC. Thrombin generation: What have we learned? *Blood Rev* 2012;26: 197-203.
4. Samama M.M. Des anciens tests de coagulation à ceux plus récents. *Bio Tribune Mag* 2011 ; 28 : 6-9.
5. Pitney WR, Dacie J. A simple method of studying the generation of thrombin in recalcified plasma. *J Clin Pathol* 1953; 6: 9-13.
6. Castoldi E, Rosing J. Thrombin generation tests. *Thromb Res* 2011; 127 (suppl 3): S21-5.
7. Gerotziapas GT, Depasse F, Busson J, Le Flem L, Elalamy I, Samama MM. Towards a standardization of thrombin generation assessment: the influence of the tissue factor, platelets and phospholipids concentration on the normal value of thrombogram-thrombinoscope assay. *Thromb J* 2005; 3: 16.
8. Baglin T. The measurement and application of thrombin generation. *Br J Hematol* 2005; 130, 653-61.
9. Hemker HC, Wienders S, Kessels H, Beguin S. Continuous registration of thrombin generation in plasma, its use for the determination of the thrombin potential. *Thromb Haemost* 1993; 70: 617-24.
10. Filippin L, Debaugnies F, Noubouossié D, Lê P.Q, Ferster A, Demulder A. Test de generation de thrombine: importance d'établir les valeurs de référence en fonction de l'âge et des concentrations en facteur tissulaire avant l'implémentation au laboratoire. *Rev Med Brux* 2011 ; 32 : 69-73.
11. Hemker HC, Willems GM, Beguin S. A computer assisted method to obtain the prothrombin activation velocity in whole plasma independent of thrombin decay processes. *Thromb Haemost* 1986; 56 (1):9-17.
12. Hemker HC, Al Dieri R, De Smedt E, et al. Thrombin generation, a function test of the haemostatic-thrombotic system. *Thromb Haemost* 2006; 96: 553-61.
13. Ten Cate H. Thrombin generation in clinical conditions. *Thromb Res* 2012; 129: 367-70.
14. Esmonc T. Basic mechanisms and pathogenesis of venous thrombosis. *Blood Rev* 2009; 23 (5): 225-9.

## AGENDA DES MANIFESTATIONS SCIENTIFIQUES

**ANALYTICA CHINA : 8 TH INTERNATIONAL TRADE FOR LABORATORY TECHNOLOGY, ANALYSIS, BIOTECHNOLOGY AND DIAGNOSTICS**

Du 10 octobre 2016 au 12 octobre 2016

SHANGHAI - CHINE

**4th JOINT EFLM-UEMS CONGRESS "LABORATORY MEDICINE AT THE CLINICAL INTERFACE"**

Du 21 octobre 2016 au 24 octobre 2016

Warsaw, PL

**14th ASIA-PACIFIC FEDERATION FOR CLINICAL BIOCHEMISTRY AND LABORATORY MEDICINE CONGRESS**

Du 26 novembre 2016 au 29 novembre 2016

Taipei, TW

**SFI 2016 : ANUAL MEETING OF THE FRENCH SOCIETY FOR IMMUNOLOGY**

Du 28 novembre 2016 au 30 novembre 2016

PARIS - France

**TURKISH IN VITRO DIAGNOSTIC (IVD) SYMPOSIUM**

Du 18 décembre 2016 au 20 décembre 2016

Izmir, TR

**FORUM LABO&BIOTECH**

Du 29 mars 2017 au 31 mars 2017

PARIS - France

**THE 9th INTERNATIONAL AND 14TH NATIONAL CONGRESS ON QUALITY IMPROVEMENT IN CLINICAL LABORATORIES**

Du 19 avril 2017 au 22 avril 2017

Téhéran, IR

**IFCC-EFLM EUROMEDLAB 2017**

Du 11 juin 2017 au 15 juin 2017

Athens, GR

**XXIII COLABLIOCLI CONGRESS 2017 AND XI URUGUAYAN CONGRESS OF CLINICAL BIOCHEMISTRY**

Du 17 septembre 2017 au 22 septembre 2017

Punta del Este, UY

**XIV INTERNATIONAL CONGRESS OF PEDIATRIC LABORATORY MEDICINE**

Du 20 octobre 2017 au 22 octobre 2017

Durban, ZA

**XXIII IFCC WORLD LAB 2017**

Du 22 octobre 2017 au 25 octobre 2017

Durban, ZA

**ACHEMA 2018**

Du 11 juin 2018 au 18 juin 2018

FRANCFORT - Allemagne

**XXIV IFCC WORLD LAB 2020 SEOUL**

Du 24 mai 2020 au 28 mai 2020

Seoul, KR

# STBC

*Société Tunisienne  
de Biologie Clinique*

## Société Tunisienne de Biologie Clinique

### Programme des Journées de Formation STBC 2016

| Thèmes  | Date                           | Lieu     | Coordinateurs                                |
|---|--------------------------------|----------|--|
| Sécurité transfusionnelle   | 12 Avril 2016                  | Gabès    | M. CHAABENE<br>H. KAABI                      |
| Biologie des grossesses à risque  | 15 Avril 2016                  | Tunis    | A. GHARIANI<br>G. MERDASSI                   |
| Surveillance d'un traitement anticoagulant : Présentation de cas              | 16 Avril 2016                  | Nabeul   | T. BEN MESSAOUD<br>N. H. TOUMI               |
| Les leishmanioses   | 29 Avril 2016                  | Kairouan | N. NABLI<br>H. BABBA                         |
| Interprétation et validation des tests immuno-hématologiques                  | 20 Octobre 2016                | Tabarka  | M. CHAABENE<br>H. KAABI                      |
| Spermogramme et automatisation  | Reportée à une date ultérieure | Tunis    | F. BEN HASSINE<br>H. BEN ARIBIA              |
| Surveillance d'un traitement anticoagulant : Présentation de cas              | 23 Septembre 2016              | Gafsa    | T. BEN MESSAOUD<br>N. H. TOUMI               |
| Actualités sur les marqueurs tumoraux   | 07 Octobre 2016                | Tunis    | T. BEN MESSAOUD<br>M. F. NAJJAR              |
| Diagnostic biologique des protozooses intestinales                            | 14 Octobre 2016                | Tunis    | A. GHARIANI<br>E. CHAKER                     |
| Particularités biologiques du Nouveau- né                                     | 04 Novembre 2016               | Monastir | N. NABLI<br>M. SASSI                         |
| Actualités diagnostiques des infections urinaires                             | 26 Novembre 2016               | Tunis    | F. BARGUELLIL<br>Y. BEN SALEM                |
| Diagnostic biologique d'une thrombopénie                                      | 09 Décembre 2016               | Tunis    | K. BEN ABDALLAH<br>S. MAHJOUR<br>M. CHAABANE |
| Pièges diagnostiques en hémostase   | 06 Janvier 2017                | Tunis    | F. BEN HASSINE<br>B. NCIRI                   |
| L'automatisation en microbiologie, critères décisionnels, contrôles et pièges | 03 Février 2017                | Tunis    | F. MESSADI<br>N. BOUJAFER                    |

# INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

## Introduction

---

La Revue Tunisienne de Biologie Clinique (RTBC) est publiée par la Société Tunisienne de biologie Clinique. Les sujets publiés se rapportent à tous les aspects et toutes les disciplines de la Biologie Clinique.

La revue accepte les articles revue générale, les articles de recherche, les articles originaux, les présentations de cas pratiques, les notes de formation continue, les revues de presse ou de livres et les lettres à l'éditeur.

Les manuscrits soumis à la RTBC ne doivent pas avoir fait l'objet de publication antérieure. Tous les documents reçus sont sujets à une révision éditoriale à des fins de conformité avec le style adopté par le Journal.

Les principes éthiques doivent être pris en considération dans la préparation et la publication des manuscrits.

Les auteurs doivent clairement déclarer tout conflit d'intérêt en rapport avec le sujet.

Tous les articles sont examinés par au moins deux lecteurs anonymes sélectionnés par le comité de rédaction. Les noms des auteurs ne sont pas déclarés aux lecteurs. Le comité de rédaction s'assurera qu'il n'y a pas de conflit d'intérêts dans l'attribution des lecteurs.

Les seules exceptions à la règle de double lecture anonyme sont :

- les éditoriaux sollicités, qui peuvent dans certains cas n'être évalués que par le seul Comité de Rédaction ou par un seul lecteur extérieur ;
- les textes validés par des sociétés savantes (recommandations, consensus, etc.), et de façon générale les textes officiels, qui sont publiés sous leur forme originale sans aucune modification. Les modalités d'évaluation sont simplifiées et peuvent varier pour les numéros supplémentaires et spéciaux.

Les articles et tous les autres documents imprimés et publiés dans la RTBC représentent les opinions de leurs auteurs et ne reflètent nullement les idées de l'éditeur ou du bureau exécutif de la Société Tunisienne de Biologie Clinique.

## La langue de soumission

---

Les manuscrits publiés par la RTBC peuvent être rédigés en français, en anglais ou en arabe. Le titre, le résumé et les mots clés doivent être fournis dans deux langues dont obligatoirement l'anglais.

Les noms et les unités des substances chimiques ou biologiques devraient suivre les recommandations de l'IUPAC-IUBMB et de l'IFCC.

## Les types de manuscrits

---

**Les articles originaux :** Ils ont pour objet de présenter un travail original se rapportant à la biologie clinique pour la résolution de problèmes en pathologie humaine.

Les manuscrits soumis devraient présenter des informations concises et bien organisées et ne doivent pas dépasser les 20 pages (illustrations, références et résumé compris). Ils doivent comporter les sections suivantes dans l'ordre : une page titre, une page résumé et mots clés, les pages tableaux et figures et les pages comportant notamment les chapitres: introduction, matériel et méthodes, résultats, discussion et références.

**Les articles de revue générale :** ce sont des articles de synthèse ayants pour objet de présenter une mise au point des connaissances ou de souligner les acquisitions récentes. Ils sont rédigés par des experts ayant effectué des recherches sur le sujet s'y rapportant et sont souvent publiés sur la base d'invitation par le comité de rédaction. Des suggestions au rédacteur en chef peuvent toutefois être avancées. Les mises au point ne doivent pas comporter plus de 70 références; Les recommandations pour la rédaction sont identiques à celles concernant les articles originaux.

**Communication courte :** c'est un espace réservé à des articles consacré à l'exercice quotidien de la biologie (évaluation technique et réactovigilance, cas clinique, valeurs sémiologiques des analyses, management des laboratoires, informations utiles pour la formation continue ...). Ces communications doivent comporter moins de 2000 mots, deux tableaux ou figures et moins de 20 références.

**La Lettre à l'éditeur :** Cette rubrique vous permet de réagir et d'envoyer vos questions ou commentaires sur les articles publiés par la RTBC. La lettre à l'éditeur peut aussi concerner une nouveauté ou un évènement en biologie clinique. La lettre doit être concise et peut inclure une figure ou un tableau. La pertinence et la compatibilité éthiques des lettres seront examinées par le comité de rédaction. Les lettres à la rédaction ne doivent pas excéder 2 pages ni comporter plus d'un tableau ou figure et 5 références bibliographiques.

### **Préparation des manuscrits**

---

Les manuscrits doivent être rédigés en format Word avec une interligne de 1,5, une police Times News Roman de 12 avec 1 marge de 2,5 cm des 4 côtés de la page avec une pagination.

La page de titre : Cette page doit contenir les éléments suivants:

- Le titre en français ou arabe et le titre en anglais,
- Le type du manuscrit,
- Les Noms et Prénoms dans l'ordre des auteurs suivi chacun par le numéro (mis entre parenthèse) de son adresse professionnelle
- Les numéros et adresses professionnelles de chaque auteur.
- Les coordonnées du correspondant : nom de l'auteur, titre, adresse professionnelle, et adresse e-mail.
- Les remerciements éventuels.

Le titre doit clairement refléter le contenu du manuscrit et ne doit pas dépasser 15 mots.

Le résumé : les résumés en Français ou Arabe et en anglais doivent être composés de 180 à 220 mots et comporter l'introduction, les objectifs, les méthodes, les résultats et les conclusions de l'étude. Le résumé ne doit contenir aucune abréviation ni référence.

Les mots clés : sont mis dans la page des résumés. 3 à 8 mots clés doivent être fournis dans deux langues (dont obligatoirement l'anglais). Il est de première importance que les mots clés soient en conformité avec le MeSH (accessible notamment par la page principale de PubMed).

Les unités et les abréviations : Les données numériques doivent être déclarées en unités SI. L'utilisation des unités locales non SI est autorisé sous réserve de mettre entre parenthèse l'équivalent en SI.

Dans le manuscrit les abréviations doivent être explicitées (données entre parenthèses) à leur première apparition dans le texte. Toutes les abréviations doivent être au format internationalement reconnu.

Les tableaux : Ils doivent être présentés sur des pages séparées du texte et numérotés consécutivement en chiffres romains dans l'ordre d'apparition dans le texte. Chaque tableau doit comporter un titre au-dessus. Les notes de bas de page peuvent être insérées lorsque c'est nécessaire.

Les figures : elles sont numérotées en chiffres arabes par ordre d'apparition dans le texte. Les numéros, les titres et les légendes des figures doivent être mis en dessous et sur une même page.

Les références : Les références doivent être classées par ordre numérique à la fin de l'article en fonction de l'ordre de citation dans le texte. Les noms abrégés des revues doivent être conformes aux recommandations de MEDLINE disponibles à l'adresse suivante [www.ncbi.nih.gov/pubmed/](http://www.ncbi.nih.gov/pubmed/).

Seuls les articles publiés ou sous presse peuvent être inclus.

- *Exemples de références:*
  - o *Article d'une revue :*  
Panteghini M, Forest JC. Standardization in laboratory medicine: new challenges. Clin Chim Acta 2005;355:1-12.



o *Article d'un Livre*

Panteghini M, Bais R, Van Solinge WW. Enzymes. In: Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE, eds. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics. 4th ed. Philadelphia, PA: Elsevier Saunders, 2006:597-643.

**Pour Soumettre un article :**

---

Pour soumettre un article vous devez accéder au site <http://www.rtbc.org.tn> /.

Pour commencer la soumission d'un manuscrit il faudrait tout d'abord vous connecter à votre compte. Si vous n'êtes pas membre du site de la RTBC il faudra créer un compte.

La soumission se fera en 10 étapes successives et vous devez préparer les fichiers suivants :

- le titre en français et en anglais
- une seule page contenant uniquement le titre de l'article, les auteurs et leurs institutions ainsi que le nom et l'adresse complète (avec email, n° de tel mobile et adresse) de l'auteur correspondant
- le résumé en français et en anglais
- les mots clés
- le fichier principal de votre article ne doit comporter ni titre, ni auteur ni aucun signe permettant de reconnaître son origine (afin de garantir le maximum d'impartialité dans le processus d'évaluation)
- un document à part contenant les tableaux et figures avec leurs numéros et titres
- les images à insérer doivent être au format imprimable Jpg (300 pixels/pouce), .PSD, .Tiff ou AI)..
- le formulaire de cession de Copyright : Le manuscrit doit être accompagné d'une lettre indiquant que:
  - o Tous les co-auteurs ont accepté de soumettre le manuscrit à la revue,
  - o Les conclusions n'ont pas été publiées ailleurs;
  - o Le manuscrit n'est pas actuellement à l'étude par une autre revue,Les droits d'auteurs du manuscrit sont cédés à la Société Tunisienne de Biologie Clinique.  
Le formulaire de consentement est téléchargeable sur le site de la revue ([www.rtbc.org.tn](http://www.rtbc.org.tn))

Les Caractères accentués ne doivent pas être utilisés dans les noms des documents. Evitez d'utiliser MS Power Point pour les textes, tableaux et figures.

La soumission en ligne se fait en 10 étapes. Tant que vous n'avez pas validé définitivement votre soumission qui se trouve à la dernière étape vous aurez toujours l'occasion de la modifier. Vous pouvez à tout moment interrompre la soumission. Les étapes déjà saisies ne seront pas perdues et vous aurez la possibilité de la continuer en accédant à l'espace «Mes Soumissions».

**Principes éthiques** applicables aux recherches in vivo impliquant des sujets humains et animaux : Tous les manuscrits rapportant des études impliquant des sujets humains ou des animaux doivent être accompagnés d'une lettre d'approbation obtenue du comité d'éthique de l'institution où le travail est accompli. Le comité de rédaction se réserve le droit de demander des rapports similaires pour les études in vitro.

Les adresses postales et email de la revue et du comité de rédaction sont accessibles sur le site web de la STBC : <http://www.stbc.org.tn>

*Ces instructions aux auteurs sont conformes aux «Exigences uniformes pour les manuscrits présentés aux revues biomédicales», préparé par le Comité international des rédacteurs de revues médicales (<http://www.icmje.org>) .*

*Dernière mise à jour : Mars 2015*