

REVUE TUNISIENNE DE BIOLOGIE CLINIQUE

المجلة التونسية للبيولوجيا السريرية

Volume 20, Numéro 2, Mai - Juin - Juillet - Août 2013

SOMMAIRE

Editorial

E. Mehiri-Zeghal, L. Slim-Saidi

Articles originaux

- ✓ **Première description de la mutation mucoviscidose R334W dans la population libyenne**
S. Hadj Fredj, S. Oueslati, M. Boudaya, C. Sahli, H. Siala, A. Bibi, T. Messaoud
- ✓ **Epidémiologie des Infections à *Escherichia Coli* BLSE à l'hôpital Militaire principal d'instruction de Tunis : Etude Comparative sur deux ans 2010 et 2011.**
MS. Asli, S. Khelifi, F. Barguelli
- ✓ **Evaluation de la malnutrition protéino-énergétique et de son degré de sévérité chez les patients âgés hospitalisés**
Y. Zayani, M. Elasmî, M. Lamoum, W. Zidi, M. Feki, M. H. Houman, N. Kaabachi.
- ✓ **Produits de glycation avancée et statut antioxydant chez des diabétiques Tunisiens**
H. Chahed, N. Gammoudi A. Soualhia, L. Chaib, S. Ferchichi, A. Miled.
- ✓ **Analyse étiologique des carences en vitamine B12. A propos de 99 cas**
M. Essaidi, M. A. Yousfi, F. Jenene, E. Ghazouani, M. Fadhel Najjar.

Activités de la Société et nouvelles professionnelles



REVUE TUNISIENNE DE BIOLOGIE CLINIQUE

المجلة التونسية للبيولوجيا السريرية

ORGANE DE LA SOCIÉTÉ TUNISIENNE
DE BIOLOGIE CLINIQUE

Comité de Direction :

A. Hedhili
N. Gharbi
M.H. Ben Aribia
A. Bouslama
F. Khemiri
W. Khrouf

Comité de Rédaction :

Rédacteur en chef :

A. Mebazaa

Attachés à la rédaction :

MC. Ben Rayana
S. Besbes
N. Ben Romdhane
N. Kaabachi
N. Nabli

Comité de lecture :

A. Amor, A. Ayadi, H. Babba,
R. Barbouch, F. Barguellig,
E. Belhassen, S. Ben Ammar,
M.A. Ben Amor, K. Ben Romdhane,
Y. Brahem, E. Chaker, W. Douki,
M. Elloumi, M. Feki, S. Feki,
C. Fendri, N. Fnina, I. Ghedira,
Y. Gorgi, N. Gritli, M. Hassine,
S. Hmida, M. Jeddi, M. Kortas,
C. Mazigh, T. Messaoud, R. Mrad,
M.F. Najjar, B. Nsiri, A. Slim,
L. Slim, Z. Tabka, A. Trabelsi

Consultants étrangers :

V. Blatton (Belgique),
L. Chabraoui (Maroc), J-L. Dhondt
(France), M. Ferrari (Italie),
J.C. Forrest (Canada), M. Germanos
(Liban), P. Gillery (France),
J. Hickes (USA), A. Legrand
(France), JF. Lesesve (France),
M. Muller (Autriche),
P. Mura (France)

Adresse :

Laboratoire de Biochimie

Hôpital La Rabta - Tunis

Tél. : 71 561 912 - Fax : 71 570 506

E-mail : abdf.mebazaa@gnet.tn

SOMMAIRE

	Pages
● Editorial	3
<i>Slama HMIDA</i>	
● Revue générale	5
✓ La cytométrie en flux : un nouvel outil diagnostique en hématologie	
<i>N. Braham-Jmili, MC. Jacob</i>	
✓ La thrombopénie induite par l'héparine : un paradoxe et une complication majeure du traitement	
<i>I. Elalamy</i>	
● Articles originaux	26
✓ Etude de la lithiase rénale chez une population d'adultes tunisiens	
<i>F. Neffati, I. Ben Salem, I. Hellara, R. Saïdi, N. Frej, H. Saad, MF. Najjar</i>	
✓ A propos d'un cas de rhabdomyolyse toxique à la paraphénylène diamine	
<i>Z. Ouzzif, S. Siyah, L. Ouammi, H. Belkhi, M. Derouiche</i>	
● Pratique quotidienne	41
✓ Contrôle de qualité interne en biologie clinique	
<i>O. Menif, N. Kaabachi</i>	
● Informations scientifiques	52
● Activités de la Société	53



2^{ème} Cycle de Sensibilisation et d'information sur le management de la qualité dans un laboratoire de santé

Préambule :

Ce cycle est organisé à l'intention des biologistes des laboratoires de santé des secteurs privé et public afin de les aider dans la mise en place du SMQ dans leurs laboratoires respectifs. Il est organisé par la Société Tunisienne de Biologie Clinique (STBC) et Tunisie Bioformation (TBF), sous l'égide du ministère de la santé publique et dans le cadre du projet de coopération avec l'OMS (BCT/000/RB/06).

Organisation du cycle :

Le cycle comprend 3 séminaires qui se dérouleront dans un hôtel à Hammamet et organisés comme suit :

S₁ : « La qualité dans un laboratoire de santé : Concepts généraux et outils »

Date : 22 – 23 Juin 2007

- Concept de la qualité, principes essentiels et exigences des systèmes de management de la qualité (Normes ISO 9000 et ISO 9001).
- Référentiel légal et référentiels normatifs.
- Le guide de bonnes pratiques de laboratoire (GBPL).
- Diagnostic de situation d'un laboratoire.

S₂ : « La mise en place du SMQ »

Date : 7 – 8 Septembre 2007

- Planification de la mise en place du SMQ.
- Mise en place du SMQ.
- Le système documentaire relatif au SMQ.

S₃ : « Evaluation du SMQ »

Date : 19 – 20 Octobre 2007

- Audit interne, Audit externe, Revue de direction.
- Conduite d'un audit interne.
- La gestion des non conformités, des dérogations et des réclamations.
- Certification et accréditation.

Dispositions générales :

Le cycle de formation est piloté par un comité d'organisation qui veille à la mise en place du cycle, à la sélection des candidatures, à la gestion du courrier et à la gestion matérielle des séminaires.

Le nombre de participants est fixé à 30 par cycle. Les frais de formation sont fixés à 450 D par participant et par cycle payable après confirmation de l'inscription.

Une attestation de validation de la formation sera remise aux participants ayant satisfait au test d'évaluation qui sera organisé à la fin du cycle.

Pour s'inscrire : il suffit d'envoyer votre demande par email aux 2 adresses suivantes :

contact@stbc.org.tn

contact@tunisiebioformation.org

Personnes Contact : Les secrétaires généraux de la STBC et de TBF :

Pr. Soufia BESBES
Tel : (216) 71 606 978
Fax : (216) 71 606 912
Email : soufia.besbes@rns.tn

Pr. Naoufel NABLI
Tel : (216) 98 404 576
Fax : (216) 73 367 451
Email : Naoufel.Nabli@fphm.mu.tn

SLAMA HMIDA **LA BIOLOGIE MOLECULAIRE EN BIOLOGIE CLINIQUE**

*Centre National
de Transfusion
Sanguine - Tunis*

La biologie moléculaire regroupe un ensemble de techniques basées sur l'étude, la détection, et la modification des acides nucléiques.

L'émergence de ces techniques dans la quasi-totalité des disciplines biologiques, le développement à partir des années 1990 de la bioinformatique et la mise à disposition des banques de données internationales (EMBL, Gen bank - DDBJ...) ont été à l'origine de profondes répercussions en médecine, à la fois techniques et conceptuelles. Ainsi d'éclatants succès ont été réalisés Clonage des virus VIH et VHC, des gènes DMD (Myopathie de Duchenne) du gène HFE (Hemochromatose congénitale).

La PCR ou la polymérisation en chaîne, mise au point en 1985 par K.Muller, reste la technique qui a connu le développement le plus spectaculaire et le plus rapide de l'histoire de la biologie. Elle a envahi tous les laboratoires, et a fait l'objet de diverses applications incluant les maladies héréditaires, la recherche de virus, de bactéries, de parasites d'oncogènes de translocation...

Le champ d'application de la PCR s'est renforcé encore plus ces dernières années par l'avènement de la PCR quantitative qui a donné la possibilité de suivre l'évolution de certaines maladies et de suivre l'effet du traitement. En effet, la mesure de la charge virale est devenue un marqueur indispensable pour suivre l'évolution d'infection virale chronique, décider l'instauration thérapeutique adaptée et d'en évaluer l'efficacité.

En hématologie, la PCR quantitative devient un outil indispensable pour le suivi de la maladie résiduelle dans les Leucémies Myéloïdes Chroniques et dans les Leucémies aiguës, ainsi que pour l'étude du chimérisme hématopoïétique post allo-greffe de cellules souches, et ce dans le but de suivre l'évolution du greffon et d'anticiper les rechutes par l'injection des lymphocytes du donneur (DLI).

Cependant, derrière la grande simplicité et l'apport inestimable de la PCR, se cachent de nombreux pièges susceptibles d'entacher la valeur des résultats obtenus. Des mesures spécifiques d'organisation liées aux risques de contamination doivent être prises et imposent un certain nombre de contraintes au niveau de la structure générale du laboratoire comme au niveau de l'organisation du travail.

Quelle sera, dans l'avenir, la place de la biologie moléculaire dans les laboratoires de biologie clinique ?

La technologie des sondes, associée à celle de la PCR, a permis l'émergence d'une nouvelle méthode qui semble promise à un bel avenir, les puces à ADN (ADN chips). Les puces à ADN permettent en effet, de mesurer dans le même temps le niveau d'expression (mesure de l'ARNm, transcrit en ADN complémentaire par Reverse transcriptase) de plusieurs milliers de gènes, voire d'un génome entier. Cette avancée technique permettra de nombreuses nouvelles applications comme l'étude du réseau génétique au sein d'une cellule, ou l'obtention d'une signature moléculaire caractéristique d'un type de cellule, d'une pathologie, ou d'un patient.

Consciente du rôle et de l'importance de la biologie moléculaire dans les laboratoires de biologie clinique, la STBC a organisé du 1^{er} au 3 décembre 2006 le premier cours international de biologie moléculaire, et organisera le 2^{ème} cours du 7 au 9 Mai prochain. Lors du premier cours ont été abordées les techniques de base, notamment l'extraction de l'ADN, la réaction de polymérisation en chaîne (PCR), le rôle des principaux ingrédients, et le contrôle des produits d'amplification.

Lors du 2^{ème} cours, outre les techniques de base, les participants seront initiés à l'utilisation des banques de données internationales (Gene bank...) et de l'outil informatique, afin d'identifier le gène d'étude, de s'initier au design des primers, au blasting et à l'identification des enzymes de restriction.

Avec cet effort annuel, la STBC cherche à diffuser ces techniques de biologie moléculaire afin d'aider le biologiste praticien à les introduire en routine, non dans le but de remplacer les techniques classiques mais plutôt pour étoffer et affiner le diagnostic.

La cytométrie en flux : un nouvel outil diagnostique en hématologie

N. BRAHAM-JMILI*,
MC. JACOB**

* Laboratoire d'Hématologie
CHU Farhat Hached - Sousse
Tunisie

** Laboratoire d'Immunologie
Cellulaire - Site Rhône Alpe
Grenoble - France

Résumé : La cytométrie en flux est un procédé d'analyse biologique basé sur l'analyse des caractéristiques physiques de particules distinctes défilant l'une derrière l'autre dans un flux de liquide par le biais de trois systèmes : fluide, optique et informatique. Cette analyse est précédée d'une étape de marquage avec des molécules spécifiques d'une structure ou d'une fonction cellulaire, ces molécules étant susceptibles d'émettre une fluorescence après leur excitation par un faisceau laser, le plus employé étant le laser à argon. Les signaux de diffusion et de fluorescence (photons) sont captés par des détecteurs qui les transforment en signaux électriques qui seront traités par un système informatique. La cytométrie en flux a investi un champ d'application très large en hématologie : l'immunophénotypage des hémopathies, la détection de la maladie résiduelle, la numération des réticulocytes, le diagnostic de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne. Ses champs d'applications en immuno-hématologie sont multiples, notamment la numération des cellules souches. D'autre part l'étude du cycle cellulaire a permis de mieux comprendre les facteurs contrôlant l'apoptose.

Généralités

L'étude de la cellule a longtemps reposé sur des observations microscopiques. La seule nécessité était alors de grossir l'objet afin de repérer les particularités propres à chaque type cellulaire dans le but de les identifier et de les compter et donc de détecter des anomalies quantitatives et qualitatives (1).

En hématologie biologique, la connaissance précise de l'origine des cellules s'avère parfois indispensable pour une caractérisation complète des maladies du sang nécessitant à côté de la morphologie, l'immunophénotype, le caryotype voire la biologie moléculaire (2,3).

Parmi ces techniques, la cytométrie en flux (CMF), basée sur la mesure de signaux lumineux émis par des cellules devant une source lumineuse, s'est imposée comme une technique de choix. Elle permet l'étude précise de cellules isolées entraînées dans un flux liquide. Les cellules, alignées les unes derrière les autres et séparées d'au moins 1mm, défilent à grande vitesse (plus de 30 km/h) devant un rayon laser (4).

La CMF a été développée dans les années 60 par les chercheurs de Los Alamos et de Standford aux Etats Unis. Elle ne s'est cependant réellement développée que depuis les années 80 avec la mise au point d'appareils performants : «les cytomètres de flux» et le développement de la production des anticorps monoclonaux (5,6).

Analyse de la lumière diffusée et de la fluorescence :

La source lumineuse peut être une lampe de vapeur de mercure (ou de xenon) ou un laser (argon, Krypton, Hélium), le plus utilisé étant le Laser à argon (488 nm et 514 nm) (4).

La source lumineuse permet l'excitation de molécules fluorescentes appelées fluorochromes, marquant les anticorps eux même fixés sur des cellules, excitation qui entraîne la «diffusion lumineuse».

Cette dernière se fait soit dans l'axe du laser, soit à 90° et donne respectivement une information sur la taille et la granularité (ou structure) de chacune des cellules à analyser (6,7).

Le passage des cellules dans un cytomètre est donc pré-

revue générale

cédé d'une étape de marquage avec des anticorps marqués par des fluorochromes susceptibles d'émettre une fluorescence après leur illumination. Les signaux de diffusion et de fluorescence (photons) sont captés par des détecteurs qui les transforment en signaux électriques (Figure 1), traités et amplifiés par un système informatique. Chaque cellule est ainsi transformée en un "évènement électrique" (event) avec plusieurs coordonnées (taille, granularité, fluorescence 1, fluorescence 2...). Ces évènements électriques forment des nuages de points (sur des cytogrammes (Figure 2 et 3)) autour desquels on dessine des fenêtres électroniques (gating). Au

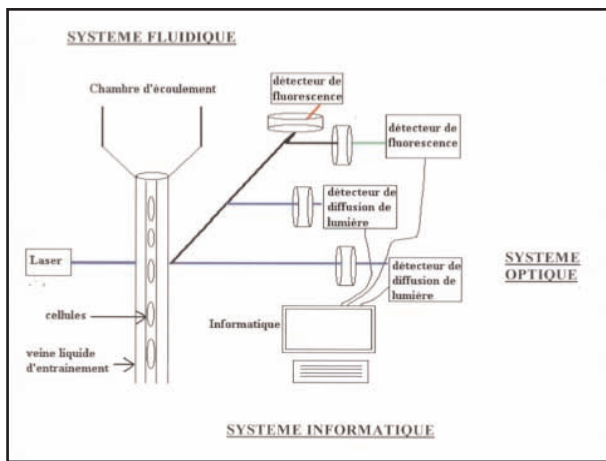


Figure 1 : Description d'un cytomètre en flux

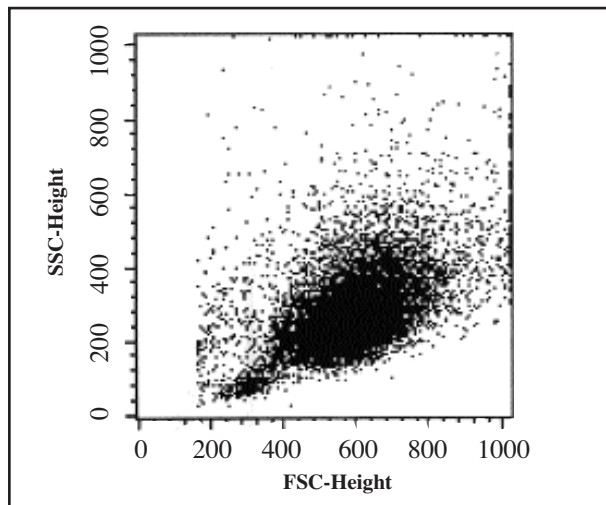


Figure 2 : Cytogramme biparamétrique Taille/Structure (granularité)

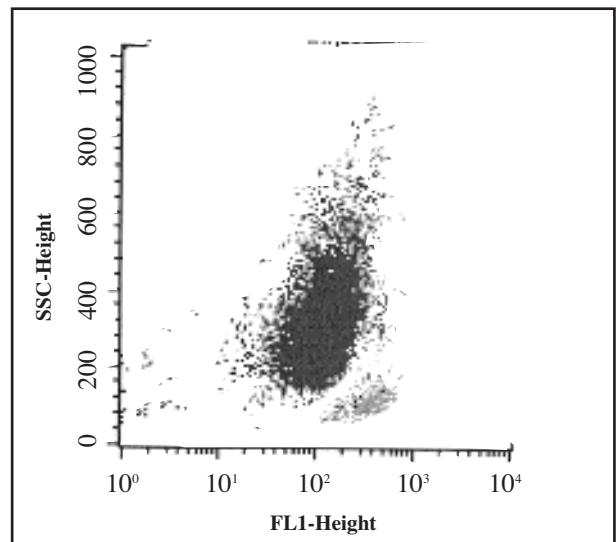


Figure 3 : Cytogramme biparamétrique CD45 / Structure au cours d'une leucémie aigue (Meilleure séparation des populations cellulaire en particulier des blasts (CD45 faible) des lymphocytes (CD45 fort))

sein de chaque fenêtre, il est possible de préciser la distribution de la fluorescence sous forme d'histogramme de distribution de fréquence (Figure 4). L'axe horizontal correspond à l'étendu des canaux de fluorescence. La mesure de l'intensité de la fluorescence se fait selon une échelle arbitraire (8,9). Le nombre de canaux est de 0 à 1023 en

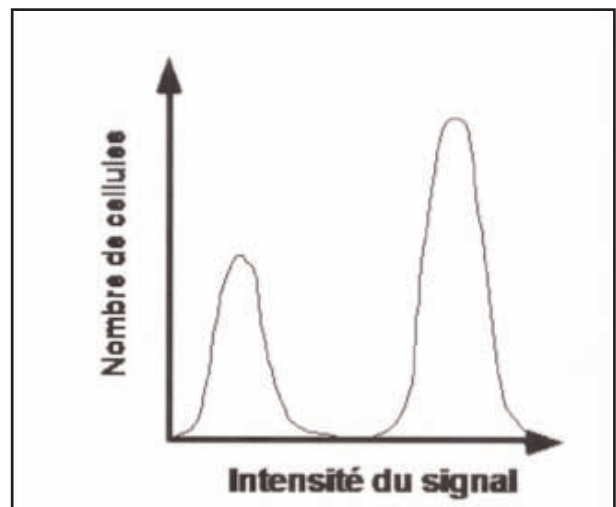


Figure 4 : Histogramme monoparamétrique

échelle linéaire, de 0 à 104 en mode logarithmique.

Fluorochromes

Les cellules en suspension de l'échantillon sont marquées par des anticorps monoclonaux marqués par des fluorochromes (Tableau I) qui se lient spécifiquement à des molécules de la surface cellulaire et plus récemment à l'intérieur des cellules. La fluorescence est la propriété que possèdent certaines molécules lorsqu'elles sont soumises à l'action d'un rayonnement électromagnétique d'émettre dans toutes les directions des radiations lumineuses dont la longueur d'onde caractéristique de la substance est différente de celles qui les ont provoquées. Ces molécules, à l'état de repos (niveau d'énergie W0), ont la propriété d'absorber l'énergie émise par une source

fluorochromes. Elles sont très utiles comme marqueurs de molécules.

Les fluorochromes choisis doivent être compatibles avec la source lumineuse utilisée. En cas d'utilisation simultanée de plusieurs fluorochromes, ils doivent être distingués les uns des autres (spectres d'émission différents) mais si possibles pouvoir être excités par la même source lumineuse (1).

L'utilisation de plusieurs fluorochromes émettant à des longueurs d'ondes différentes permet de marquer simultanément les cellules par plusieurs fluorochromes pouvant se fixer sur des structures différentes (5). 3 ou 4 fluorochromes différents, ou plus, en fonction du nombre de lasers, peuvent être détectés en fonction de

Tableau I : Fluorochromes et tandems de fluorochromes couramment utilisés (4).

ABREVIATION	NOMS DES FLUOROCHROMES	LONGUEUR D'ONDE D'EXCITATION	LONGUEUR D'ONDE D'EMISSION
FITC	Isothiocyanate de Fluorescéine	488	525
TRITC	Isothiocyanate de Tétraméthylrodamine	560	590
TR	Texas Red	594	597-640(618)
PE	Phycoérythrine	488	565-590(575)
APC	Allophycocyanine	590	645-675
CY5	Carboxyméthylindocyanine		677
PerCP	Peridine-chlorophylle-A-proteine	488	672
AMCA	7-amino-4methylcoumarine-3- acide acetique	351	430
PE+TE	Tandems* PE+Texas Red	488	597-640
PE/CY5	Tandems PE+CY5	488	677

• : Dans le tandem, la longueur d'onde émise par le premier fluorochrome excite le second dont la lumière émise est mesurée.

lumineuse et de gagner un niveau d'énergie supérieur (W1) en faisant passer un électron d'une sous-couche à un autre. Si l'apport d'énergie extérieure cesse, l'électron va gagner une sous - couche d'énergie inférieure W2, dans un premier temps intermédiaire entre W0 et W1. Dans cette dernière étape, il va libérer l'énergie acquise = W1-W2 sous forme de lumière selon la relation de base :

$$W = h\nu \quad (h = \text{constante de Planck, } \nu = \text{fréquence de la lumière})$$

Les molécules qui ont cette propriété sont appelées

leur longueur d'onde d'émission.

Appareillage

Le «cytomètre en flux» est basée sur 3 systèmes (Figure 1) (4,10) :

- Le système fluide : assure par un mécanisme d'hydrofocalisation le transport des cellules les uns derrière les autres après leur marquage par un ou plusieurs anticorps dans un liquide de gaine.
- Le système optique : les cellules passent dans une

chambre de lecture devant un faisceau laser. Les lasers présentent l'intérêt d'émettre une lumière monochromatique. Selon les longueurs d'onde nécessaires pour exciter le fluorochrome marquant l'anticorps lui-même fixé sur les cellules, on choisira un type de laser ou un autre (1). Les différents signaux optiques émis (lumière diffractée, fluorescence...) définissant 3 canaux optiques (taille, granularité et fluorescence) sont séparés les uns des autres par un jeu de miroirs et de filtres optiques. En effet, l'intensité de la lumière diffractée dans l'axe (Angle = 10°) est proportionnelle à la taille de la cellule (FSC : forward scatter); celle diffractée à 90° est représentative de son contenu cytoplasmique (SSC : side scatter) (11).

Les différents signaux optiques émis par la cellule doivent être focalisés, séparés puis acheminés vers des systèmes de détection ; photomultiplicateurs ou photodiodes. Ils sont pour cela, sélectionnées par différents circuits optiques, composés d'une alternance de miroirs et de filtres (Figure 1).

- Le système informatique : le signal électronique est converti en valeurs digitales en mode linéaire ou logarithmique. Le convertisseur ADC (analog to digital converter) affecte une valeur numérique pouvant être stockée électroniquement et proportionnelle à l'intensité du signal (4). Le cytomètre mémorise tous les paramètres de chaque cellule considérée individuellement dans une liste informatique le «list mode».

Présentation des résultats

Les profils immunophénotypiques des cellules sont évalués sur des sous-populations cellulaires par dénombrement des éléments à l'intérieur d'une zone d'intérêt et sont exprimés en pourcentages ou en unités arbitraires en fonction de l'intensité de fluorescence.

Ce procédé d'analyse individuelle (cellule par cellule) est multiparamétrique. L'ordinateur calcule les données statistiques associées aux distributions des paramètres mesurés et les représente sous la forme des :

- Histogrammes monoparamétriques ou l'axe des abscisses représente l'intensité du signal analysé et l'axe des ordonnées le nombre de cellules (Figure 4).
- Histogrammes biparamétriques ou cytogrammes présentant deux signaux simultanément (Figure 2 et 3).

La détermination du seuil permet de distinguer les cellules positives ou négatives exprimant ou n'exprimant pas l'antigène étudié (6).

Application en hématologie

La CMF a investi un champ d'application très large. Celui-ci ne cesse de s'étendre en raison, en particulier, de la grande diversité des réactifs disponibles.

Les applications dans le secteur de l'hématologie sont difficiles à résumer (12,13), aussi nous n'en citerons que quelques unes.

Immunophénotypage des hémopathies malignes

Les leucémies aiguës (LA) :

La CMF est la technique de choix pour le diagnostic immunophénotypique des LA. Le but de l'immunophénotypage est de repérer les cellules anormales, d'en déterminer les caractéristiques phénotypiques, la ou les lignée(s) cellulaire(s) d'origine, et leur degré de maturation (14, 15, 16).

L'immunophénotypage est devenu un examen indispensable au diagnostic des leucémies aiguës. En effet, en présence de blastes sans signes morphologiques de différenciation myéloïde, l'immunophénotypage est le seul moyen permettant d'affirmer leur caractère myéloïde (17). L'introduction du marqueur CD 45 permet une meilleure individualisation des populations cellulaires et une précision accrue du fenêtrage des blastes (figure 3). Le phénotype immunologique des LA permet de définir plusieurs sous-groupes (tableau II), dont certains sont corrélés à un aspect cytologique et/ou à des anomalies cytogénétiques et moléculaires. Il identifie certaines formes rares de LA. (16,18).

Dans la classification EGIL (european group for immunological characterization of leukemias) (17), la définition immunologique des leucémies aiguës myéloïdes (LAM) repose sur l'expression par les blastes d'au moins deux marqueurs myéloïdes : MPO, CD13, CD33, CD65, CD117. La CMF permet de rattacher pratiquement toutes les LAL aux lignées B ou T et à certains stades de la différenciation au sein de chacune de ces lignées (17) (tableau II).

Tableau II : Classification immunologique des leucémies aiguës (2)

<p>1/ Leucémies aiguës lymphoblastiques B : CD19+, CD79a+, OO22+ (au moins 2 des 3)</p> <ul style="list-style-type: none">- Pro B (BI) Td T+, HLA-DR+, CD10-- Commune (BII) TdT+, HLA-DR+, CD10+- Pré B (BIII) TdT+, HLA-DR+, CD10+, μ cyto+- B mature (B IV) TdT-, HLADR+, CD10+/-, μ cyto+, Igs+ <p>2/ Leucémies aiguës lymphoblastiques T: CD3c/s+</p> <ul style="list-style-type: none">- Pro T (T I) CD3c+ CD7+- Pré T (T II) CD3c+, CD7+ , CD2+, CD5+/-, CD8+/-- Cortical T (T III) CD3C+, CD7+, CD2+, CD1a+, CD4+ ou CD8+- Mature (T IV) CD 3s+, CD7+, CD2+, CD1a-, TCR x/_ ou x/_ <p>3/ Leucémies aiguës myéloïdes : anti MPO+, CD13+, CD33+, CD65+, CD117+ (au moins 2 des 5)</p>

L'immunophénotypage permet aussi l'identification des marqueurs pronostiques des LA tels que la présence de marqueurs lymphoïdes (exemple CD19 et CD56) au cours de leucémies aiguës myéloïdes (19,20) et l'évaluation de la maladie résiduelle (ensemble des cellules malignes persistant dans l'organisme et non détectables par l'étude morphologique classique). La caractérisation des cellules leucémiques de la maladie résiduelle repose sur la mise en évidence par un marquage multiple de phénotypes «aberrants» non retrouvés dans la différenciation lymphoïde ou myéloïde normale. La maladie résiduelle est définie par la présence du phénotype «aberrant» (le même que celui identifié lors du diagnostic) à un seuil de sensibilité de l'ordre de 10⁻⁵. En comparant la CMF à la biologie moléculaire, en dehors de la difficulté pratique (qualité de l'échantillon, nécessité de disposer d'un grand nombre de cellules, fixation non spécifique des anticorps, difficulté à définir les seuils de positivité par rapport au témoin) et au fait que le phénotype «aberrant» n'est pas présent dans toutes les cellules de la population maligne, la cytométrie en flux présente plusieurs avantages par rapport à la biologie moléculaire (sensibilité équivalente, moindre coût, rapidité de résultats, ne dépend pas de l'existence d'un transcrit) (16,21, 22,23).

Les syndromes lymphoprolifératifs Chroniques (SLP) :

Dans les SLP chroniques, l'immunophénotypage permet de distinguer (24) :

- une prolifération maligne d'une hyperlymphocytose réactionnelle, en particulier dans un contexte d'infection virale. Pour les proliférations lymphocytaires B malignes, on distingue une restriction isotypique des chaînes légères d'immunoglobulines de type Kappa ou Lambda, permettant d'affirmer la monoclonalité dans 98% des cas.

- de déterminer la nature B, T ou NK de la prolifération : il est impossible par le seul examen morphologique de distinguer les cellules lymphoïdes B des cellules lymphoïdes T. Cette distinction est cependant importante en raison des différences de pronostic entre les proliférations B, T et NK. Si la réalisation de ces immunophénotypages est relativement aisée, il n'en va pas de même de l'interprétation des résultats au cours d'un diagnostic de lymphoprolifération de type T/ ou Natural Killer (NK) (25).
- d'aider au diagnostic et à la classification des SLP chroniques. Pour les SLP chroniques de type B (90% des SLP chroniques), l'interprétation des résultats repose sur la positivité/négativité de certains marqueurs mais aussi leur intensité d'expression (tableau III).

Le score de Matutes (26), basé sur 5 marqueurs, CD5,

revue générale

CD23, FMC7, intensité d'expression du CD22 et des immunoglobulines de surface, a pour objectif de distinguer la leucémie lymphoïde chronique de type B (LLC B) des autres SLP chroniques (tableau III).

Numération des réticulocytes :

La détermination des réticulocytes mise au point par Coulter est une application de la méthode utilisée pour la détermination de la formule leucocytaire, adaptable sur tous les Coulter actuellement en service. Il s'agit

d'une méthode semi automatisée, qui combine l'usage d'une coloration supravitale au bleu de méthylène avec une analyse par un cytomètre en flux utilisant un laser de faible énergie. D'autres sondes fluorescentes des acides nucléiques sont utilisées. Ainsi la technique de Nobe utilise le thiazole orange qui est un marqueur fluorescent de l'ARN, la fluorescence est analysée par cytométrie (27,28).

Diagnostic de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne :

Tableau III : Profil d'expression dans les pathologies lymphoprolifératives chroniques d'origine B (21)

Marqueurs	LLC	LPL	SLVL	HCL	LF	LM
CD19	+	+	+	+	+	+
Igs	faible	++	+ / ++	+ / ++	++	++
CD5	+	- / +	-	-	-	+
CD23	+	-	-	-	+ / -	-
CD22	faible	++	+	+	+	+
CD79b	-	+	+	+	+	+
FMC7	-	+	+	+	+	+
CD10	-	-	-	-	+ / -	-
CD25	+ / -	+ / -	-	++	+	-
CD11c	- / +	+ / -	++	++	- / +	-
CD103	-	-	+ / -	+	-	-
CD43	+	+	+	-	+	+
CD38	- / +	-	-	- / +	- / +	-
Score de Matutes	4 ou 5	0	0	0	0 / 1	1 ou 2

Abréviations :

+ : positif

- : négatif

+ / - : positif dans plus de 50% des cas

++ : fortement positif

- / + : positif dans moins de 50% des cas

LLC : leucémie lymphoïde chronique

LF : lymphome folliculaire

LPL : leucémie prolymphocytaire

LM : lymphome du manteau

SLVL : syndrome des lymphocytes villeux

HCL : leucémie à tricholeucocytes.

Les techniques de CMF peuvent également être appliquées au diagnostic de l'hémoglobinurie paroxystique nocturne (HNP)(29,30). Cette pathologie qui résulte d'une mutation somatique au niveau des cellules souches, se traduit par un déficit partiel ou total des protéines de surface liées à la membrane cellulaire par un groupement glycoposphatidyl inositol (GPi) (exemple CD55, CD58, CD59), présents sur la plupart des cellules hématopoïétiques et non hématopoïétiques. Sur la population érythrocytaire des patients, on observe le plus souvent deux populations cellulaires : l'une exprimant normalement la protéine (type I) l'autre étant soit partiellement (type II) soit totalement déficiente (type III).

La CMF est bien sûr plus sensible que le test de HAM-DACIE classiquement pratiqué sur les hématies, particulièrement lorsque la proportion des cellules anormales est faible. Cependant, en raison de la fragilité des hématies pathologiques et des éventuelles transfusions, l'étude conjointe des autres lignées cellulaires apparaît le plus souvent nécessaire. En effet, d'autres marqueurs à GPI non érythrocytaires peuvent également être recherchés tels que le CD 14 au niveau des monocytes et le CD 16 au niveau des polynucléaires neutrophiles.

Cytogénétique en flux :

Les chromosomes sont mis en suspension puis incubés en présence de substances fluorescentes (molécules fluorescentes spécifiques de certains gènes, anticorps dirigés contre des protéines constituant des chromosomes et marqués par des fluorochromes...).

L'analyse des intensités de fluorescence émise par chaque chromosome permet de les classer selon la quantité de substances fluorescentes qu'ils ont fixées (fonction de leur contenu en ADN) et donc d'obtenir un histogramme représentant le caryotype en flux (31).

Immuno-hématologie :

La CMF permet d'évaluer l'expression des antigènes des groupes sanguins (29, 32, 33) ainsi que la proportion des cellules positives et négatives. Ainsi, elle est très utile pour phénotyper des doubles populations érythrocytaires, particulièrement dans le cas où l'une des populations est très minoritaire et pour phénotyper avec plusieurs anticorps chacune des populations d'un mélange cellulaire plus au moins complexe. La CMF permet également de détecter les antigènes intracellulaires après perméabilisation de la membrane érythrocytaire.

Par ailleurs, cette technique est utilisée pour le contrôle de la déleucocytation en dénombrant les leucocytes résiduels contaminant les préparations plaquettaires et érythrocytaires utilisées en transfusion.

La CMF est a priori une technique parfaitement adaptée à l'étude quantitative des anticorps. En particulier de nombreuses équipes européennes ont utilisé la CMF pour titrer les anticorps anti D des femmes enceintes immunisées.

Enfin, l'utilisation d'anticorps réagissant de manière spécifique avec les antigènes leucocytaires humains a

permis l'étude des phénotypes HLA de classe I et II (34,35).

Etude des sous populations lymphocytaires

Les processus immunitaires font intervenir l'ensemble des populations leucocytaires sanguines. Leur numérisation et leur caractérisation sont des paramètres importants pour la connaissance du phénotype immunitaire. La mise sur le marché de cytomètres de maniement plus aisé qui sont figés dans des configurations simplifiées et adaptées à l'étude d'une ou deux populations cellulaires a facilité ce type d'analyse (35). C'est l'exemple de l'étude des sous populations lymphocytaires T chez les sidéens qui est systématisée grâce à la CMF (36,37). En effet, l'infection par le virus VIH se traduit par des désordres immunitaires liés à la disparition progressive des lymphocytes T helper (TCD4+) et des lymphocytes T cytotoxiques/suppresseurs (TCD8+). Le suivi des numérations en valeur absolue des LT CD4+ et LT CD8+ donne une indication sur l'évolution de la maladie.

Numération des cellules CD 34 :

La cytométrie en flux a la possibilité de faire la numération des progéniteurs hématopoïétiques en utilisant comme traceur un anticorps monoclonal marqué qui reconnaît la molécule CD34 à la surface des cellules souches. Cette molécule est présente à la fois sur les cellules immatures et sur tous les progéniteurs en voie de différenciation (39).

La numération des progéniteurs CD34+ est primordiale en cas de greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH), qu'ils s'agissent de l'autogreffe ou de l'allogreffe. Ainsi, la CMF permet d'estimer les capacités de régénération d'un échantillon de moelle osseuse, de sang de cordon ou de sang périphériques. Ces matrices représentent les sources de CSH.

Autres applications :

Font partie des nouvelles applications de la CMF,

- L'étude du cycle cellulaire : L'analyse du pourcentage de cellules dans les différentes phases G0/G1, S et G2/M du cycle cellulaire a permis l'étude des facteurs contrôlant l'apoptose (40,41).

- *Le tri cellulaire* : Une fragmentation contrôlée du flux liquide conduit à l'emprisonnement de chaque cellule

dans une goutte peu après l'analyse dans un délai parfaitement connu par la machine durant lequel elle décidera de charger électrostatiquement chaque goutte contenant une seule cellule intacte et viable répondant à des critères désigné par le chercheur. Les gouttes chargées sont déviées de leur chute initiale par un champ électrique constant et dirigées vers des flacons collecteurs (42).

- La détection de cellules métastatiques de tumeurs solides dans le sang ou la moelle (43,44).

- *L'Array* : C'est l'utilisation de billes pour des dosages immunologiques des molécules telles que les cytokines dans les milieux biologiques (45).

Bibliographie

- 1- Metezeau P. Cytométrie en flux. L'information du biotechnicien 1994 ; 2 (4) : 233-9.
- 2- Valensi F. Classification des leucémies aiguës : nouvelles propositions de l'OMS. Rev Fr Labo 2002 ; 344 : 19-24.
- 3- Flandrin G. La nouvelle classification OMS des hémopathies malignes. Hémopathies myéloïdes. Hématologie 2001; 7(2) : 134-6.
- 4- Owens MA, Loken MR Flow cytometry : Principles, for Clinical Laboratory Practice. New York: Wiley-Liss, 1995 : 288.
- 5- Gane P. La cytométrie en flux en immunohématologie. Transfus Clin Biol 2002 ; 9 : 271-9.
- 6- Roederer M. Conjugaison of monoclonal antibodies. Oxford : Oxford University Press, 1997 : 23.
- 7- Givan A. Flow cytometry: First principles. New York: Wiley-Liss, 2001 : 273.
- 8- Loken MR, Brosnan JM, Bach BA, Ault KA. Establishing optimal lymphocytes gates for immunophenotyping by flow cytometry. Cytometry 1990 ; 11 : 453-9.
- 9- Stewart CC, Stewart SJ. The use of directly and indirectly labeled monoclonal antibodies in Flow cytometry. In methods in molecular biology. Vol. 45 : Monoclonal antibodies protocols. Edited by WC Davis. Immuna Press In C., Totowa, NJ. 1994.
- 10- <http://www.tours.inra.fr/equipements/cytometrie/utilisations-principes/schema-cytometre.htm>
- 11- Recktenwald DJ. Introduction to Flow cytometry : Principles, Fluorochromes, Instrument Set-Up, Calibration. J. Hematotherapy 1993 ; 2 (3) : 387-94.
- 12- Stewart CC, Nicholson JKA, eds. Immunophenotyping. New York : Wiley-Liss, 2000 : 442.
- 13- Lamy B, Herve P, Peters A. Uses of FC in hematology. Rev Fr Transfus Immunohematol 1988; 31(4): 641-60.
- 14- Del Vecchio L., Brando B., Lanza F., Ortolani C., Pizzolo G., Semenzato G., Basso G. Recommended reporting format for low cytometry diagnosis of acute leukemia. Haematologica 2004 ; 89(5) : 594-8.
- 15- Feki S., El Omri H., Laatiri M.A., Ennabli S., Boukef K., Jenhani F. Contribution of flow cytometry to acute leukemia classification in Tunisia. Dis Markers 2000 ; 16(3-4) : 131-3.
- 16- Jouault H. Place de la cytométrie de flux pour le diagnostic et le suivi des leucémies aiguës. Rev Fr Lab 2004 ; 344 : 25-30.
- 17- Bene M.C., Castoldi G., Knapp W., Ludwig W.D., Matutes E., Orfao A., van't Veer M.B. Proposals for the immunological classification of acute leukemias. European Group for the Immunological Characterization of Leukemias (EGIL). Leukemia 1995 ; 9 (10) : 1783-6.
- 18- Carbera E., Rojas B., Labras S., Matutes E., Puga B. Acute myeloid leukemia MO : Clinical and laboratory characteristics. Rev Med Chil 1997 ; 125 (4) : 433-7.
- 19- Cruse JM., Lewis RE., Pierce S., Lam J., Tadros Y. Aberrant expression of CD7, CD56 and CD79a antigens in acute myeloid leukemias. Exp Mol Pathol 2005 ; 79 (1) : 39-41.
- 20- Pei MF, Zhang GS, Xiao L. The features and significance of immunophenotyping in adult acute leukemia. Hunan Yi Ke Da Xue Xue Bao. 2000; 25(3): 262-4.
- 21- Campana D. Determination of minimal residual disease in leukaemia patients. Br J Haematol 2003; 121(6): 823-38.
- 22- Kern W., Voskova D., Schoch C., Schnittger S., Hiddemann W., Haferlach T. Prognostic impact of early response to induction therapy as assessed by multiparameter flow cytometry in acute myeloid leukemia. Haematologica 2004 ; 89(5) : 528-40.
- 23- Vidrales M.B., San-Miguel J.F., Orfao A., Coustan-Smith E., Campana D. Minimal residual disease monitoring by flow cytometry. Best Pract Res Clin Haematol 2003 ; 16(4) : 599-612.

- 24-** Troussard X., Salaun V. La cytométrie de flux dans les syndromes lymphoprolifératifs chroniques de l'adulte. *Spectra Biologie* 2001 ; 20 (121) : 31-2.
- 25-** Plonquet A. Différenciation lymphoïde T. Méthode d'exploration des lymphocytes T et applications aux lymphoproliférations T/NK.
- 26-** Matutes E., Owusu-Ankomah K., Morilla R., Marco J.G., Houlihan A., Que T.H., Ctovsky D. The immunological profile of B cell disorders and proposal of scoring system for the diagnosis of CLL. *Leukemia* 1994 ; 8 : 1640-5.
- 27-** Valensi F, Vandemeulebroucke E, Burtin-Curutchet ML, Widemer M, Tetard MC, Flandrin G. Evaluation of the coulter method for reticulocyte count. *Ann Biol Clin* 1995 ; 53(9) : 481-6.
- 28-** Laharrague P, Corberand JX, Fillola G, Marcelino N. Evaluation of an automatic analyzer of reticulocytes : the Sysmex R -1000. *Ann Biol Clin* 1990 ; 48(4) : 253-8.
- 29-** Gane P. La cytométrie en flux en immunohématologie. *Transfusion Clinique et biologique* 2002 ; (9) : 271-9.
- 30-** Cui W, Fan Y, Yang M, Zhang Z. Expression of CD59 on lymphocyte and the subsets and its potential clinical application for paroxysmal nocturnal hemoglobinuria diagnosis. *Clin Lab Haematol* 2004 ; 26 (2) : 95-100.
- 31-** Metezeau P. Cytogénétique en flux. Principes, avantage et limites. Quelle perspectives pour l'onco-Hématologie ? *Pathol Biol* 1988 ; 36 (1) : 46-51.
- 32-** Boval B. La cytométrie en flux : application en transfusion. *Transfus Clin Biol* 2000 ; (7) suppl 1 : 63s-68s.
- 33-** Doinel C, Bourin P. Flow cytometry in immuno and hemato : some essential practical aspects. *Rev Fr Transf Hemobiol* 1989 ; 32(6) : 467-81.
- 34-** Monneret G, Seffert O, Debard AL, Gutowski MC, Couprie N, Larbre JP, Tebib J, Bienvenu J. Standardization and automation of HLA B27 typing by flow cytometry : validation and comparison with microlymphocytotoxicity. *Ann Biol Clin* 2000 ; 58(4) : 461-6.
- 35-** Kravtsoff R, Canepa S, Boulanger MD, Babault C, Chassaigne M. HLA B27 phenotyping using flow cytometry. *Rev Fr Transfus Hemobiol* 1991; 34(2) : 131-7.
- 36-** Rabson A. Enumeration of T cells subsets in patients with HIV infection. *AIDS Clin Care* 1995 ; 7(1) : 1-3.
- 37-** Mandy F, Bergeron M, Houle G, Bradley j, Fahey J. Impact of the international program for quality assessment and standardization for immunological measures relevant to HIV/AIDS : QASI. *Cytometry* 2002 ; 50 (2) : 111-6.
- 38-** Martini E, Noet G. The pitfalls of lymphocyte immunophenotyping during HIV infection. *Ann Biol Clin* 1993; 51 (7 - 8) : 689-96.
- 39-** Durand B, Bernaud J, Raffin A, Merieux Y, Rigal D, Salles G, Coiffier B. Contribution of dual CD13/CD14 markers in combination with CD 34 for the collection of peripheral hematopoietic stem cells. *Pathol Biol* 1997 ; 45(9) : 767-70.
- 40-** Elstein KH, Zucker RM. Comparison of cellular and nuclear flow cytometric techniques for discriminating apoptic subpopulations. *Exp Cell Res* 1994 ; 211(2) : 322-31.
- 41-** Schneider F, Kieser A. A novel assay to quantify cell death after transient expression of apoptotic genes in B- and T-lymphocytes. *J Immunol Methods* 2004 ; 292 (1-2) : 165-74.
- 42-** Lamb LS Jr. Hematopoietic cellular therapy: implications for the flow cytometry laboratory. *Hematol Oncol Clin North Am* 2002 ; 16 (2) : 455-76.
- 43-** Georgakoudi I, Solban N, Rice WL, Wei X, Hasan T, Lin CP. In vivo flow cytometry : a new method for enumerating circulating cancer cells. *Cancers Res* 2004 ; 64(15) : 5044-7.
- 44-** Zhang J, Shen KW, Liu G, Zhou J, Shen Q, Shen ZZ, Shao ZM. Antigenic profiles of disseminated breast tumour cells and microenvironment in bone marrow. *Eur J Surg Oncol* 2003 ; 29 (2) : 121-6.
- 45-** Antunez C, Torres MJ, Corzo JL, Pena RR, Mayorga C, Jurado A, Santamaria-Babi LF, Blanca M. Different lympho-

La thrombopénie induite par l'héparine : un paradoxe et une complication majeure du traitement

I. ELALAMY

Service d'Hématologie
Biologique, Hôtel-Dieu, Paris 1
Parvis Notre Dame 75181
PARIS Cedex 04

Résumé : Les héparines, constituant un véritable standard dans la prophylaxie et le traitement anti-thrombotique, sont très largement utilisées en pratique clinique depuis plus de cinquante ans. Les complications iatrogènes potentielles sont nombreuses (1). Deux types de thrombopénies survenant dans le cadre d'une héparinothérapie sont décrits : les thrombopénies induites par l'héparine (TIH) de type I et de type II. Les TIH de type II, de nature immune et thrombosante constituent la complication la plus redoutable de ce traitement (1,2).

Le problème majeur de cet effet secondaire est triple : sa reconnaissance, sa prise en charge et sa confirmation doivent être les plus précoces possibles pour éviter la survenue de complications dramatiques compromettant le pronostic vital.

Epidémiologie et mécanismes pathogéniques

A- La TIH de type I

Elle est non immune. Elle apparaît à l'induction du traitement anticoagulant avec une diminution modérée de moins de 20% de la numération plaquettaire. Elle est asymptomatique et se corrige spontanément malgré la poursuite du traitement. Elle serait liée à l'interaction directe des plaquettes avec l'héparine provoquant une augmentation de la liaison du fibrinogène et facilitant leur élimination par la rate. En fait, leur fréquence (10 à 20%) et leur mécanisme physiopathogénique restent encore mal connus (3).

Il s'agit d'une thrombopénie bénigne, asymptomatique et modérée. Elle serait particulièrement fréquente chez les patients ayant déjà une hyperréactivité plaquettaire : artériopathie des membres inférieurs, insuffisance coronaire... Ces phénomènes sont spontanément réversibles malgré la poursuite du traitement.

B- La TIH de type II

Elle est d'origine immune et de survenue retardée. Elle apparaît, dans plus de 80% des cas, entre le 5^{ème} et le 15^{ème} jour et elle est exceptionnelle après la 3^{ème} semaine de traitement. En cas de présensibilisation lors d'un traitement héparinique antérieur, ce délai de survenue

peut être raccourci, avec une thrombopénie notable en 24 ou 48 heures voire quelques heures seulement. Il s'agit généralement d'une diminution brutale du chiffre plaquettaire avec une réduction relative de plus de 30% de la valeur initiale (4). En fait, en cas de complication thrombo-embolique survenant sous héparine sans thrombopénie vraie, il importe d'envisager ce diagnostic et de connaître l'évolution naturelle de la numération plaquettaire dans un contexte donné (4,5).

La thrombopénie peut être profonde, s'aggravant avec la poursuite de l'héparinothérapie.

Sa fréquence reste rare quoique notable compliquant jusqu'à 1 à 5% des traitements prolongés (7 à 14 jours) par héparine non fractionnée (HNF) (6). En fait, son incidence reste difficile à évaluer. Elle pourrait dépendre de divers critères :

- le terrain est probablement en cause car les notions d'inflammation, de sepsis ou d'intervention chirurgicale sont assez régulièrement retrouvées. Ils seraient responsables de la génération accrue de cytokines et de chémokines participant à la constitution de complexes antigéniques en présence d'héparine (7).
- les TIH sont possibles quelle que soit la voie d'administration intraveineuse ou sous-cutanée.
- le type d'héparine utilisée : les héparines d'origine bovine sont plus souvent incriminées que celles

d'origine porcine. Avec les héparines de bas poids moléculaire (HBPM) des TIH ont certes été rapportées (8-10) mais avec une incidence bien inférieure à celle de l'HNF (11). Dans une étude prospective dans le cadre de la stratégie antithrombotique prophylactique post-chirurgie orthopédique, Warkentin et al. rapportent une incidence de TIH de 2,7% avec l'HNF (9/332, intervalle de confiance (IC) 1,3 à 5,1%) et de 0% avec l'HBPM (0/333, IC 0 à 1,1%) (6). Dans une étude similaire, chez des patients ayant une prothèse totale de hanche, nous avons rapporté un seul cas de TIH sur 500 sujets recevant une prophylaxie par HBPM (12). En fait, il serait plus classique de considérer une incidence de 0,1 à 0,2% avec les HBPM.

- la durée du traitement héparinique : il est possible que l'incidence soit un peu plus élevée aux doses curatives prolongées (13,14)

- compte-tenu de la nature idiosyncrasique de cet accident, la posologie d'héparine influence peu cette incidence car mêmes des doses infimes destinées à maintenir la perméabilité des cathéters (15) suffisent à générer une TIH.

Il est maintenant bien établi que la TIH de type II est une

thrombopénie périphérique due à l'apparition d'anticorps dirigés contre un complexe macromoléculaire Héparine / Facteur 4 plaquettaire (F4P) (16). Dans un premier temps, les phénomènes inflammatoires et/ou les phénomènes d'activation plaquettaire relatifs aux différents contextes médicaux ou chirurgicaux, accroissent la libération de F4P et favorisent la formation de complexes héparine/F4P. Ces complexes de grande taille sont antigéniques et induisent la synthèse d'anticorps. Ces anticorps participent à la formation de complexes immuns et entraînent une activation plaquettaire directe par l'interaction du fragment Fc des IgG avec les récepteurs FcγRII membranaires (CD32). Les autres Ig (A ou M) peuvent activer directement d'autres cellules (lymphocytes, monocytes, neutrophiles) mais aussi indirectement les plaquettes après fixation du complément par exemple. La TIH est donc associée à une activation cellulaire disséminée impliquant les plaquettes, les monocytes et les cellules de l'endothélium vasculaire pouvant aboutir à une véritable coagulation généralisée. La conjonction de ces phénomènes cellulaires et plasmatiques est responsable des thromboses et de la thrombopénie observées (4) (figure 1)

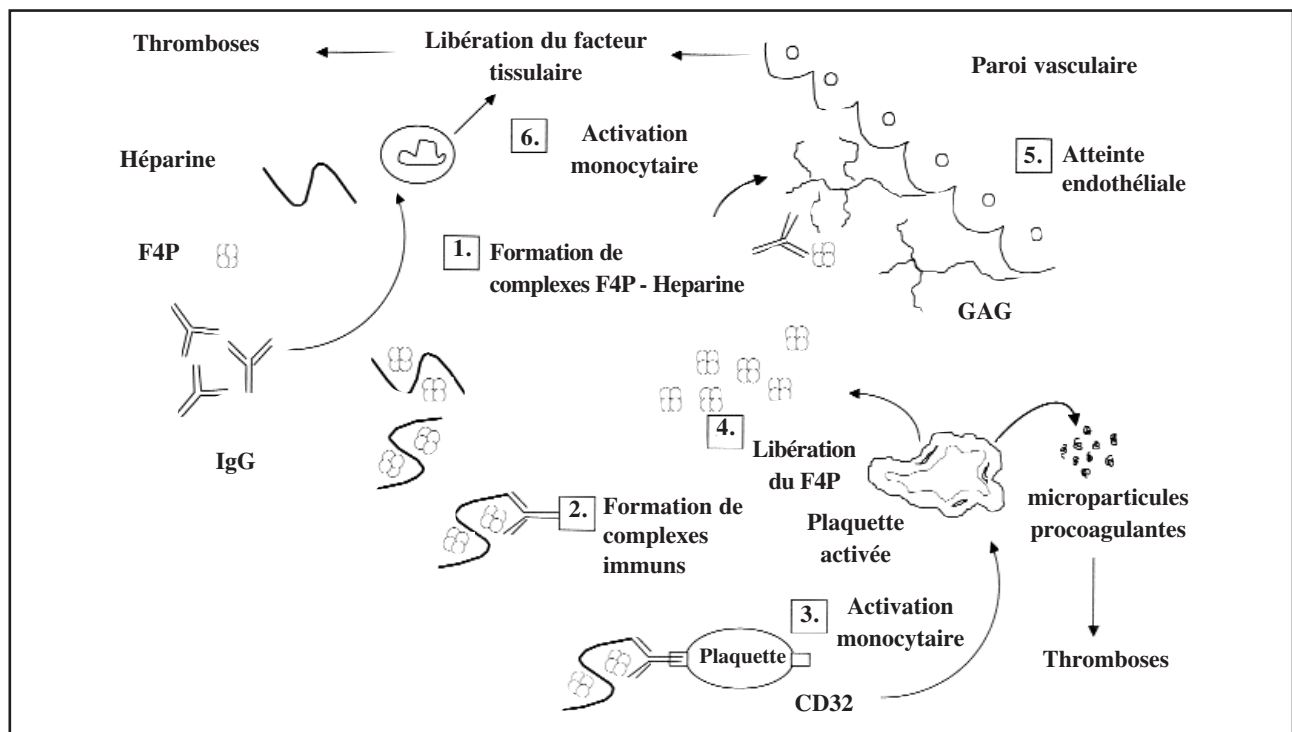


Figure 1 : Mécanisme pathogénique de la TIH

Des études récentes suggèrent que dans de plus rares cas, les TIH de type II peuvent être liées à d'autres mécanismes. Ainsi, certains patients développent des anticorps anti-F4P/héparine de type IgA et/ou IgM dont la pathogénicité semble aussi sévère que celle des IgG. D'autres présentent des anticorps dirigés contre des chémokines différentes comme le Neutrophil-Activating Peptide (NAP-2) et l'interleukine-8 (IL-8) (17). La grande hétérogénéité des anticorps générés et ces profils immunologiques «atypiques» pourraient expliquer en partie les discordances existant entre tableaux cliniques indiscutables de TIH et les examens biologiques (18)

Expression clinique

La TIH de type II peut être asymptomatique et de découverte fortuite lors d'une numération plaquettaire systématique. Malgré une thrombopénie sévère, les complications hémorragiques sont décrites dans moins de 10% des cas (2,4). Les hémorragies sont généralement bénignes avec des saignements aux points de ponction ou des ecchymoses plus ou moins étendues et plus rarement des hématomes profonds.

Les manifestations les plus fréquentes sont des complications thromboemboliques veineuses habituellement distinctes de la thrombose ayant motivé la prescription d'héparine. Ces thromboses, en apparence paradoxales et/ou associées à une thrombopénie, le plus souvent relative, doivent immédiatement faire évoquer le diagnostic. Elles surviennent dans plus de la moitié des cas. Différentes localisations sont décrites : veines profondes proximales des membres, embolies pulmonaires souvent graves et étendues, veines mésentériques ou porte, sinus veineux cérébraux... (2,4). La localisation multifocale ou même à distance du foyer initial et l'extension de la thrombose sous héparinothérapie efficace doivent être évocatrices.

Des accidents artériels ont été observés dans la plupart des territoires vasculaires (2,4) : aorte abdominale et/ou ses branches, iliaques, mésentériques, rénales, cérébrales et même coronaires.

Des lésions cutanées aux points de ponction, des plaques érythémateuses ou des lésions nécrotiques, parfois

même sans thrombopénie associée, peuvent aussi être révélatrices (19). Des réactions anaphylactiques avec œdème de Quincke sont rapportées.

D'autres accidents particulièrement insolites sont décrits tels que l'infarctus hémorragique des surrénales (19).

Outre des «phlébites bleues» (phlaegmatia coerulea), des gangrènes des membres d'origine veineuse semblent favorisées par un état préthrombotique et précipitées par un relais anticoagulant oral trop précoce ou d'intensité excessive (INR supérieur à 3) en raison de la diminution précoce des taux de protéine C et de protéine S, les anticoagulants physiologiques responsables de l'inactivation des deux catalyseurs de la coagulation plasmatique : l'accélérine (facteur Va) et le facteur antihémophilique A activé (facteur VIIIa). Le déséquilibre accru de la balance hémostatique lié à une surconsommation de ces inhibiteurs dans ce contexte d'activation généralisée de la coagulation est incriminé.

La coagulation intra-vasculaire disséminée (CIVD) est retrouvée dans plus de 20% des cas. Elle pose le difficile problème du diagnostic différentiel d'une thrombopénie liée à une CIVD ou d'une CIVD compliquant une authentique TIH de type II.

D'autres signes fonctionnels sont à rechercher et constituent de véritables signes d'alarme soulignant le caractère plurifocal et l'atteinte microcirculatoire par les thrombi plaquettaires : fièvre, détresse respiratoire, douleurs abdominales, amnésie transitoire, flush...

Des thromboses des circuits extracorporels, en chirurgie cardiaque, en hémodialyse, ainsi que des thromboses de prothèses vasculaires ou cardiaques sont rapportées. (Tableau I) Lorsque le diagnostic de TIH est porté avant la survenue d'une complication thrombotique, on constate néanmoins des thromboses secondaires dans 50% des cas au cours des 30 jours suivants (19). Ces thromboses secondaires surviennent en majorité dans les huit jours suivant l'arrêt de l'héparine soulignant l'hypercoagulabilité systémique chez ces patients et l'importance de discuter l'opportunité d'un traitement anticoagulant de substitution dans ce contexte.

La possibilité de récurrences précoces de thrombopénie et/ou d'accidents thrombotiques graves en cas de réin-

Tableau I :
Symptomatologie clinique associée à la TIH

TIH : Thrombose Induite par Héparine

- **Thromboses veineuses +++**
TVP et/ou EP
gangrène veineuse sous AVK
infarctus des surrénales
- **Thromboses artérielles (terrain +++)**
artériopathie périphérique, IDM, AVC
- **Hyperagrégabilité plaquettaire**
flush, AIT, détresse respiratoire...
- **Atteinte cutanée**
érythème nécrose aux sites d'injections

roduction de l'héparine renforce la nécessité de l'établissement d'un certificat médical attestant de cette immuno-allergie aux héparines et de la contre-indication formelle de tout traitement héparinique.

Diagnostic biologique

Le test diagnostic biologique idéal devrait être de réalisation facile avec une réponse rapide et fidèle. En fait, il n'existe pas de test correspondant au «Gold Standard» des anglosaxons pour la stratégie diagnostique de la TIH. Affirmer une TIH reste délicat car généralement les patients au cours d'un traitement par l'héparine présentent des associations cliniques et thérapeutiques qui peuvent être responsables de thrombopénie (état septique, antibiotiques et autres médicaments, transfusions, hémopathies, hypersplénisme, ...).

Au plan biologique, il faut avant tout s'assurer de la réalité de la thrombopénie : exclusion d'une pseudo-thrombopénie par thrombo-agglutination sur EDTA, vérification sur un nouveau prélèvement, observation du frottis sur lame au microscope optique à la recherche d'amas plaquettaires, réalisation éventuelle d'une numération plaquettaire sur tube citraté ou prélèvement capillaire sur Unopette (20).

Deux variétés de tests sont disponibles.

A - Les tests fonctionnels

Ils détectent l'existence d'un facteur plasmatique activateur plaquettaire et dépendant de l'héparine. Cette mise en évidence de l'activation plaquettaire est possible selon diverses méthodes.

1- La technique agrégométrique issue de la méthode de Fratantoni décrite en 1975 a été adaptée. Elle reste celle qui est la plus communément utilisée pour cette recherche par les laboratoires spécialisés : Test d'Agrégation Plaquettaire ou TAP (21). La spécificité est bonne, supérieure à 90%. La sensibilité, jugée insuffisante par certains, est variable selon les conditions de réalisation et notamment le choix des plaquettes-témoins (19,22). Pour accroître la sensibilité, il est convenu de sélectionner les témoins, d'utiliser plusieurs donneurs et même pour certains auteurs d'utiliser des plaquettes lavées. Nous avons standardisé le TAP en utilisant des anticorps monoclonaux activateurs plaquettaires pour sélectionner les plaquettes test (23). Un test négatif en cas de forte suspicion de TIH peut s'expliquer par la présence d'un taux faible d'anticorps dans le plasma du malade. Il est conseillé de renouveler cette recherche quelques jours plus tard et elle pourra alors s'avérer positive, en rapport avec le relargage plus important d'anticorps (20).

2- Le test de libération de la sérotonine radiomarquée est considéré comme le test de référence. Il mesure la sécrétion de la ¹⁴C-sérotonine par des plaquettes-témoins lavées exposées au mélange d'héparine et de plasma du patient. Du fait de la variabilité fonctionnelle plaquettaire, il serait à peine plus sensible que le TAP réalisé dans de bonnes conditions alors que sa spécificité apparaît excellente (2,19). Il est aussi de réalisation longue et difficile. Nécessitant l'utilisation contraignante d'isotopes radioactifs et de plaquettes lavées, il est donc réservé à de rares centres spécialisés (21).

3- D'autres tests fonctionnels ont été plus récemment décrits ou sont en cours d'étude pour faciliter cette approche diagnostique tels que la bioluminescence (libération d'ADP ou d'ATP) (24) et la cytométrie en flux (expression de P-sélectine (CD62) à la surface plaquettaire ou de microparticules procoagulantes) (25). Leur emploi reste toutefois limité à certains laboratoires et ces techniques demandent encore à être validées par

des études plus larges.

B- Les tests immunologiques

Il s'agit d'un test ELISA pour mettre en évidence et quantifier, en phase solide, les anticorps anti-F4P/héparine : Heparin Platelet Induced Antibodies (HPIA®, Diagnostica Stago) (16) ; il permet d'identifier les trois isotypes G, A, M des immunoglobulines. Ce test d'exécution facile a l'avantage d'être standardisé et accessible à tous les laboratoires. Il ne nécessite pas de plaquettes-test. Ce test peut révéler des anticorps anti-F4P qui sont rares. Il permet aussi l'étude des plasmas hémolysés ou chyleux inutilisables dans les tests photométriques (TAP). Le résultat est néanmoins obtenu au bout de 3 à 4 heures tout comme le TAP. Le développement de tests unitaires aurait permis la pratique du test au coup par coup. Le degré de concordance est de l'ordre de 80% avec le test de libération de sérotonine (21) et de 70% avec le TAP (26). Des discordances persistent entre des situations cliniques fortement suspectes de TIH avec l'un ou les deux tests négatifs (26). A l'inverse, de nombreux patients (10 à 30%), notamment en chirurgie cardiaque (27,28), mais aussi dans diverses situations cliniques (grossesse, diabète...) (29) présentent des anticorps anti-complexes F4P / héparine sans présenter de thrombopénie ni le moindre signe fonctionnel.

La spécificité d'un test positif n'est donc élevée que dans un contexte clinique évocateur de TIH et la recherche de ces anticorps n'est pas recommandée en routine en dehors d'une telle situation. Un autre test ELISA en phase liquide détectant les anticorps anti-F4P/héparine permettrait d'accroître la sensibilité du test (30). Un autre test ELISA en phase solide est disponible en France depuis peu de temps (HAT®, GTI) reconnaissant les anticorps dirigés contre des complexes F4P-polyvinyl sulfate et qui serait plus spécifique (31) (Tableau II) En pratique, plusieurs critères s'associent pour concourir à l'établissement du diagnostic de TIH : 1) chronologie de survenue de la thrombopénie sous héparine avec les nuances liées à une préexposition à l'héparine, 2) thrombopénie relative ou vraie nécessitant impérativement une numération plaquettaire avant l'initiation du

Tableau II : Limites et complémentarité des tests biologiques

COMPLEXES	TAP	ELISA
IGG / F4P- HÉPARINE	+	+
IgA ou IgM / F4P-héparine	-	+
IgG / ?-héparine	+	-
IgA ou IgM / ? -héparine	-	-

traitement,

- 3) survenue d'un accident thrombotique paradoxal ou signe clinique suspect,
- 4) exclusion des autres causes possibles de thrombopénie,
- 5) à posteriori, normalisation de la numération plaquettaire après interruption de l'héparine,
- 6) tests biologiques permettant de confirmer l'hypothèse diagnostique.

Chacun de ces critères peut faire défaut ce qui impose une analyse critique de l'ensemble de la situation clinique. A partir de ces critères, un score rétrospectif clinico-biologique d'imputabilité diagnostique (Tableau III) a été proposé (26). Warkentin et al proposent un score d'imputabilité pré-test (4 T) (Tableau IV). En fait, compte-tenu des limites de chacun des tests biologiques disponibles, les résultats montrent bien, d'une part, qu'aucun n'est complètement satisfaisant et que, d'autre part, ces deux méthodes, fonctionnelle et immunologique, doivent être considérées comme complémentaires dans la démarche diagnostique (26).

La détermination de l'histoire naturelle de la numération plaquettaire en contexte post-opératoire et sa surveillance sous héparinothérapie sont nécessaires. Nous avons ainsi rapporté le cas d'une patiente ayant développé une TIH fatale alors qu'elle était de novo sous prophylaxie par HBPM pour une prothèse totale de hanche (12). La patiente est décédée à J11 dans un tableau de défaillance cardio-circulatoire en rapport avec une embolie pulmonaire bilatérale et un infarctus rénal associé à une nécrose hémorragique des surrénales. Le test ELISA, réalisé rétrospectivement, était positif dès J6, soit trois jours avant la constatation de la thrombopénie à J9

Tableau III : Score d'imputabilité rétrospectif

Thrombopénie relative : ↓ rapide 30 - 50%	
Autres causes de thrombopénie	
exclues	+2
possibles (sepsis, k, hémopathie, hémorragie, mal auto-immune)	-2
administration de médicaments thrombopénisants	0
Evolution thrombopénie	
↑ > 50 000/mm ³ en < 48h après arrêt héparines	+2
normalisation en 10 - 21j	+1
récidive si réadministration héparines	+6
persistance après arrêt héparines (10 j)	-2
normalisation malgré poursuite héparines	-6
récidive après héparines	-2
normalisation lors relais par HBPM	0
issue inconnue (perdu de vue, décès)	0
Survenue de thrombose	
artérielle sans athérosclérose	+4
artérielle avec lésion s'athérosclérose	+3
veineuse sous haparines	+2
Probabilité d'imputabilité de TIH immune	
Improbable	≤ 0
Possible	1 - 2
Probable	3 - 6
Très vraisemblable	> 6

Elalamy I Rev Mal Resp 1999;16:961-974

Tableau IV : Score d'imputabilité pré-test SCORE 4 T

Thrombopénierelative	
> 50% ou nadir ≥ 20 G/l	2
relative 30 - 50% ou nadir 10 - 19 G/l	1
relative < 30% ou nadir < 10 G/l	0
Timing de survenue de la thrombopénie	
J5-J10 ou ≤ J1 si exposition ≤ 30 j	2
> J10 ou ≤ J1 si exposition 31 - 100 j	1
ou timing incertain (NFS manquante) mais compatible TIH	1
< J4 sans exposition récente	0
Thrombose ou autre manifestation clinique	
nouvelle thrombose documentée ; nécrose cutanée	2
ou réaction systémique aiguë après bolus IV HNF	2
extension ou récurrence de thrombose ou	1
thrombose suspectée non prouvée ; plaques érythémateuses	1
aucune	0
autre cause de thrombopénie	
aucune évidente	2
possible	1
définie	0

Probabilité pré test : 6 - 8 haute ; 4 - 5 intermédiaire ; 0 - 3 faible

Warkentin Circulation 2004

(perte de plus de 50% de la valeur initiale) qui avait motivé alors la réalisation d'un TAP qui s'est révélé positif. La numération plaquettaire à J6 était la même qu'en post-opératoire (perte de 30% par rapport au chiffre initial) aux environs de 200 giga/l. Cela souligne l'intérêt de la réalisation de ce test devant l'absence de remontée des plaquettes au 5^{ème} jour dans un contexte post-opératoire, à distance donc de la classique hémodilution post-chirurgie.

La confrontation des tests biologiques et du score d'imputabilité après une analyse soignée de l'anamnèse devrait donc permettre de poser le diagnostic difficile de TIH avec une approche plus fiable.

Traitement

Les TIH de type I ne requièrent aucun traitement bien entendu. Elles sont par définition asymptomatiques et spontanément régressives malgré la poursuite de l'héparinothérapie qui est donc logiquement poursuivie. Toute la difficulté réside dans le diagnostic différentiel avec une TIH de type II en rapport avec une réinduction et une chute relative précoce de la numération plaquettaire avant le 5^{ème} jour. L'autre difficulté est l'évolution potentielle en TIH de type II aux conséquences plus sévères. L'anamnèse et les critères du score clinico-biologique devraient permettre d'évaluer la probabilité diagnostique de TIH immunoallergique et la nécessité d'interrompre le traitement héparinique.

A- Traitement préventif

La prévention primaire des TIH de type II consisterait à limiter les indications de l'héparinothérapie non fractionnée et d'éviter une prescription prolongée. En effet, les TIH de type II sont bien moins fréquentes avec les HBPM et elles apparaissent surtout vers le 8^{ème} jour de traitement. Le traitement par l'héparine doit être le plus court possible, ce qui impose de réaliser autant que possible un relais précoce par les antivitamines K.

Néanmoins, toutes les situations cliniques n'autorisent pas un raccourcissement du traitement héparinique à moins de 5 jours (femmes enceintes porteuses de prothèses valvulaires, difficultés à obtenir un INR dans la zone thérapeutique...). La seule option reste alors la surveillance régulière de la numération plaquettaire.

Il est capital de disposer d'une numération plaquettaire avant l'instauration du traitement par l'héparine. En France, le GEHT (Groupe d'Etudes sur l'Hémostase et la Thrombose) préconise une surveillance bihebdomadaire de la numération plaquettaire du 5^{ème} au 21^{ème} jour de traitement par héparine (32). Ces recommandations sont à considérer comme un minimum et certains auteurs prônent même une surveillance quotidienne dans certains contextes aigus (19). En cas de traitement antérieur par l'héparine, il convient probablement de débiter la surveillance de la numération plaquettaire dès le premier jour et d'effectuer des contrôles plus fréquents.

Un antécédent de TIH documentée constitue bien entendu une contre-indication absolue à la réintroduction de l'héparinothérapie. Le risque de thrombose persistant et la valeur prédictive des tests biologiques pour la mise en évidence d'anticorps résiduels étant discutable, il est donc plus raisonnable d'avoir recours à des traitements plus sûrs et dénués de risque de rechute de TIH.

B) Traitement curatif

Le traitement d'une TIH confirmée et symptomatique nécessite souvent une approche multidisciplinaire au sein d'une équipe spécialisée associant le clinicien et le biologiste.

1) arrêt immédiat de toute héparinothérapie

Cela s'impose sur des arguments cliniques de présomption sans attendre une confirmation biologique de la TIH de type II. Il faut notamment penser à proscrire toute trace d'héparine apportée par certaines procédures : «rinçure» héparinée des cathéters ou dispositifs implantables. Les transfusions plaquettaires susceptibles d'enclencher ou d'aggraver les phénomènes thrombotiques sont contre-indiquées (19).

La surveillance quotidienne de la numération plaquettaire permet de s'assurer de la correction de la thrombopénie. Dans le cas contraire, on doit suspecter une réaction croisée avec l'agent antithrombotique utilisé. Cela survient dans 10% des cas avec le Danaparoiide. A ce sujet, l'absence de réaction croisée in vitro n'est pas pertinente sur le plan clinique et il est indispensable de surveiller étroitement l'évolution de la numération plaquettaire et des autres paramètres clinico-biologiques.

2) traitement antithrombotique de substitution

Il ne faut pas oublier que la TIH est responsable d'un véritable état d'hypercoagulabilité et que l'arrêt de l'héparinothérapie ne supprime pas le risque secondaire d'accident thrombotique dans les jours suivants (4). Un traitement antithrombotique reste donc le plus souvent nécessaire, d'autant que certaines alternatives thérapeutiques ont démontré leur efficacité dans cette indication. Cependant, aucune étude prospective rigoureuse n'a confirmé avec un niveau d'évidence élevé le bien fondé d'une alternative anticoagulante à l'héparine systématique dans les TIH non compliquées.

La fréquence des réactions croisées avec les HBPM (95% à 100% des cas) ne laisse actuellement aucune place à leur utilisation en relais de l'héparine standard (4).

L'attitude consistant à effectuer rapidement et uniquement le relais par un traitement anticoagulant oral doit également être proscrite car non seulement elle n'assure pas une protection immédiate mais surtout elle peut exposer à des accidents thrombotiques sévères de nécrose cutanée ou de gangrène veineuse des membres (19). Deux thérapeutiques bénéficient d'une large expérience et ont, en France, une Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) dans la prise en charge des TIH : le Danaparoïde (Orgaran®) et l'Hirudine recombinante, la Lépirudine (Refludan®).

Le Danaparoïde (OrgaranR) est un héparinoïde de synthèse formé par le mélange de glycosaminoglycanes d'un poids moléculaire moyen de 5500 daltons. Il comporte de l'heparan sulfate (84%), du dermatan sulfate (12%) et de la chondroïtine sulfate (33,34). Il possède un rapport activité anti-Xa/activité anti-IIa élevé et il a pour l'essentiel l'action de l'héparine (action anti-thrombine indirecte via l'antithrombine). L'inconvénient du Danaparoïde provient de la possibilité de réponse croisée avec les anticorps de TIH. Ce taux de réaction croisée avec l'héparine, jugé par les tests fonctionnels, est faible, de l'ordre de 10% (35). La pertinence clinique d'une réaction croisée *in vitro* reste discutée : certains patients ont été traités avec succès alors qu'il s'est avéré à posteriori qu'ils présentaient d'emblée une réactivité croisée, objectivée par des tests immunologiques et/ou

fonctionnels (36). En pratique, si l'on envisage un relais par le Danaparoïde, il est souhaitable de réaliser un test d'agrégation en présence de ce produit ; si le test montre une réactivité croisée, il faut recourir à l'hirudine.

La posologie recommandée, par voie sous-cutanée, est généralement de 750 Unités anti-Xa 2 fois/jour en prophylaxie thrombotique veineuse. Pour le traitement curatif, préférable d'emblée en cas de TIH, des abaques de posologies existent selon les indications retenues. L'allongement du temps de céphaline activée n'est pas une bonne méthode pour évaluer l'effet biologique de ce traitement et la surveillance du traitement se fait par l'évaluation de l'activité anti-Xa calibrée pour ce produit associée à la numération quotidienne des plaquettes. L'hirudine (lépirudine ou Refludan®) primitivement extraite de la salive de sangsue, est actuellement obtenue par génie génétique. Il s'agit d'une antithrombine directe puissante n'ayant aucune analogie avec l'héparine et donc dénuée de risque de réaction croisée. Elle inhibe directement la thrombine circulante et liée au caillot sans problème d'inactivation par le F4P. Elle n'induit pas d'activation plaquettaire. Deux essais cliniques ouverts ont permis de comparer près de 200 patients atteints de TIH traités par lépirudine à des témoins historiques (37,38). La fréquence cumulée d'accidents graves (décès, amputations, nouvelles thromboses) était de 10,6% dans le groupe traité par lépirudine contre 24,9% à J7 dans le groupe témoin historique mais avec un taux de complications hémorragiques significativement supérieur (39).

Une AMM européenne a donc été délivrée à ce produit en 1997 dans les TIH associées à un accident thromboembolique évolutif ou aggravé. La posologie recommandée est de 0,4 mg/kg en bolus suivi d'une perfusion de 0,15 mg/kg/h et d'une surveillance du temps de céphaline activé (TCA), évalué 4 heures après le début du traitement, qui doit être compris entre 1,5 et 2 fois le TCA témoin. Compte tenu de la grande variabilité inter-individuelle des allongements du TCA, la mesure de l'activité circulante de la lépirudine par le temps d'écarine est proposée pour une meilleure évaluation de l'effet biologique du traitement. De même, en cas

Tableau V. Principaux schémas thérapeutiques des TIH de type II (d'après 41)

<p>Interruption de tout traitement héparinique sans attendre les résultats des test biologiques</p>
<p>Prophylaxie antithrombotique non nécessaire</p> <ul style="list-style-type: none"> - pas de relai - si risque vasculaire accru (artéritique, lésions athéroscléreuses, stent...) : relai éventuel jusqu'à normalisation de la numération plaquettaire
<p>Nécessité d'un traitement anticoagulant</p> <ul style="list-style-type: none"> - prophylactique (absence de thrombose) : Orgaran ® - curatif (thrombose extensive) : Orgaran ®, Recludan ® - réaction croisée avec Orgaran ® : Recludan ® <p>puis relai (prolongé) par anti-vitamine K</p>
<p>Traitement associé dans des circonstances particulières</p> <ul style="list-style-type: none"> - Antiagrégants : Aspirine, Ticlopidine, Clopidogrel, Iloprost, Abciximab - Thrombolytiques - Veinoglobulines IV - Plasmaphérèse
<p>Pas de transfusion de plaquettes (inutile et dangereux)</p>

d'anticoagulant circulant de type lupique, l'allongement du TCA n'est pas le reflet exact de la dose administrée de lépirudine. En fait, la surveillance biologique reste délicate et elle doit être réalisée par des laboratoires spécialisés après un étalonnage rigoureux. Il n'y a pas de possibilité de neutralisation en cas d'accident hémorragique mais la demi-vie est courte de l'ordre de 1,5 heures.

Il existe une altération des paramètres pharmacocinétiques chez les sujets âgés et en cas d'insuffisance rénale et il est nécessaire d'adapter les doses dans ces circonstances.

L'utilisation reste contre-indiquée chez la femme enceinte ou en cas d'allaitement à la différence de l'Orgaran®.

L'apparition d'anticorps anti-hirudine a été rapportée chez 40 à 70% des patients sans aucune incidence clinique particulière ni de résistance au traitement itératif (40).

La lépirudine a reçu au niveau européen une AMM dans l'indication : «TIH de type II associée à une maladie thromboembolique nécessitant un traitement par voie parentérale et dont le diagnostic est confirmé par un test d'activation plaquettaire ou équivalent». Une étude de phar-

maco-surveillance assurant le suivi des malades au cours des premières années de commercialisation est en cours et elle devrait permettre de mieux évaluer, en pratique courante, l'efficacité, la tolérance et la bonne utilisation du traitement.

Le relais par anticoagulant oral sera entrepris dès que possible en insistant sur la nécessité d'obtenir un INR adapté à l'indication et une hypocoagulation stable après une prolongation suffisante de ce relais. Il faut en effet éviter la dose de charge qui est en fait inutile et dangereuse et les traitements assurant un INR trop élevé (>3). Les patients ayant une TIH développent un véritable état d'hypercoagulabilité avec un déséquilibre particulièrement marqué du système de la protéine C. Il est donc conseillé de maintenir le contrôle de la génération accrue de thrombine pendant ce relais et d'arrêter le traitement parentéral anticoagulant qu'après un chevauchement suffisamment long associé à la correction de la numération plaquettaire (41)

D'autres molécules sont en cours d'étude et ne sont pas actuellement disponibles en France. Parmi les molécules de synthèse ayant une action anti-thrombine indirecte

(via l'antithrombine), le pentasaccharide (Arixtra[®]) semble être un candidat intéressant car il est dépourvu de réactivité croisée in vitro avec l'héparine (42,43). Il est logiquement proposé en prévention primaire dans le cadre de son AMM en chirurgie orthopédique.

L'Argatroban (Novastan[®]) est une anti-thrombine directe utilisé au Japon, en Amérique du Nord et dans quelques pays européens (44).

En Tunisie, aucune thérapeutique de substitution n'est actuellement disponible. Il est donc nécessaire d'envisager la mise en place d'un programme compassionnel permettant l'utilisation transitoire de ces anti-thrombotiques en attendant leur enregistrement éventuel. Dans l'état actuel des choses, en l'absence d'alternative thérapeutique satisfaisante, la prescription adaptée et courte des héparines combinée à un relais précoce par anticoagulant oral reste la meilleure prévention pour éviter cette iatrogénie particulièrement délétère.

Conclusion

La thrombopénie induite par l'héparine (TIH) est une complication rare mais sévère de tout traitement héparinique. L'intérêt du diagnostic biologique est évident pour l'épidémiologie, la pharmacovigilance de ces accidents et pour définir la stratégie thérapeutique la plus appropriée. Cet intérêt est accru en raison de l'absence de critère clinique diagnostique de certitude.

Il s'agit d'un syndrome complexe aux incidences vitales et dont la prise en charge doit être basée sur un diagnostic le plus précoce possible, la coopération clinique et biologique assurée avec le concours de services spécialisés. Il est important d'y penser après une évaluation anamnestique rigoureuse pour ne pas retarder la prise en charge adéquate du patient. Il faut aussi insister sur le fait d'une sensibilisation accrue des cliniciens face à ce problème toujours d'actualité et les dangers d'une orientation diagnostique abusive retardant le diagnostic d'autres étiologies potentielles responsables d'une thrombose veineuse extensive résistante au traitement anticoagulant bien mené : les cancers et le célèbre syndrome de Trousseau. Il faudra toujours congeler un aliquot de plasma ou de sérum pour permettre le diagnostic même rétrospectif

afin d'établir une déclaration à la pharmacovigilance et un certificat attestant de cette immunisation conditionnant l'avenir de la stratégie anticoagulante éventuelle chez le patient. Les progrès dans la prise en charge diagnostique et thérapeutique des TIH sont indiscutables mais ils demandent encore à être mieux diffusés.

Références

1. Elalamy I, Horellou MH, Samama MM. Caractéristiques pharmacologiques des héparines. *Sem Hôp*, 1995, 13-14, 389-00
2. Chong BH. Annotation : heparin-induced thrombocytopenia : *Br J Haematol* 1995 ; 89 :431-9
3. Gruel Y. Thrombopénies induites par les héparines : manifestations cliniques et physiopathologie. *Presse Méd* 1998 ; 27 : S7-S12
4. Warkentin TE, Chong BH, Greinacher A. Heparin-induced thrombocytopenia : toward consensus : *Thromb Haemost* 1998 ; 79:1-7
5. Hach-Wunderle V, Kainer K, Salzmann G, Mueller-Berghaus G, Poetsch B. Heparin-related thrombosis despite normal platelet counts in vascular surgery : *Amer J Surg* 1997; 173:117-9
6. Warkentin TE, Levine MN, Hirsch J, et coll. Heparin-induced thrombocytopenia in patients treated with low-molecular-weight heparin or unfractionated heparin : *N Eng J Med* 1995 ; 332 : 1330-5
7. Amiral J. Le facteur 4 plaquettaire, cible des anticorps anti-héparine : application au diagnostic biologique de la thrombopénie induite par l'héparine : *Ann Méd Int* 1997 ; 148 : 142-9
8. Tardy B, Page Y, Tardy-Poncet B, Comtet C, Zéni F, Bertrand JC. Thrombopénie induite par une héparine de bas poids moléculaire : *Thérapie* 1990 ; 45 : 453
9. Eichinger S, Kyrle PA, Brenner B, et coll. Thrombocytopenia associated with low-molecular-weight heparin : *Lancet* 1991 ; 337 : 1425-6
10. Lecompte T, Boiteau R, Richard X, et coll. Thrombopénie grave sous tedelparine avec embolie pulmonaire et coagulopathie de consommation : *Presse Méd* 1991; 20:563
11. Weitz JI. Low-molecular-weight heparins : *N Engl J Med* 1997 ; 337 : 688-98
12. Elalamy I, Potevin F, Lecrubier C, Bara L, Marie JP, Samama MM. A fatal low molecular weight heparin associated

thrombocytopenia after hip surgery : possible usefulness of PF4-heparin ELISA test. *Blood Coag Fibrinolys*, 1996, 7, 665 - 71.

13. Decousus H, Leizorovicz A, Parent F, et coll. (PREPIC Study). A clinical trial of vena caval filters in the prevention of pulmonary embolism in patients with proximal deep-vein thrombosis : *N Engl J Med* 1998; 338:409-15
14. Simonneau G, Sors H, Charbonnier B, et coll. A comparison of low-molecular-weight heparin with unfractionated heparin for acute pulmonary embolism : *N Engl J Med* 1997 ; 337 : 663-9
15. Laster J, Silver D. Heparin-coated catheters and heparin-induced thrombocytopenia : *J Vasc Surg* 1988; 7:667-72
16. Amiral J, Bridey F, Dreyfus M, et coll. Platelet factor 4 complexed to heparin is the target for antibodies generated in heparin-induced thrombocytopenia : *Thromb Haemost* 1992; 68 : 95-6
17. Amiral J, Marfaing-Koka A, Wolf M, et coll. Presence of autoantibodies to interleukin-8 or neutrophil-activating peptide-2 in patients with heparin-associated thrombocytopenia : *Blood* 1996; 88:410-16
18. Elalamy I, Lecrubier C, Amiral J, Potevin F, Marie JP, Samama MM. Discrepancies between heparin-platelet -induced antibodies (HPIA) test and platelet aggregation test (PAT) : other target for heparin induced antibodies ? *Thromb Haemost*, 1997, suppl, 449 (abstract).
19. Warkentin TE, Kelton JG. A 14-year study of heparin-induced thrombocytopenia : *Am J Med* 1996 ; 101 : 502-7
20. Elalamy I, Potevin F, Lecrubier C, Amiral J, Marie JP, Samama MM. Diagnostic biologique de la thrombopénie immuno-allergique à l'héparine (TIH) : comparaison des tests d'agrégation plaquettaire et ELISA «facteur 4 plaquettaire-héparine» (HPIA) chez 100 patients. *Feuillets de Biologie*, 1998, XXXIX, 220, 9-16.
21. Nguyen P. Diagnostic et surveillance biologique des thrombopénies induites par l'héparine : *Presse Méd* 1998 ; 27 : S13-S17
22. Bachelot-Loza C, Saffroy R, Lasne D, Chatellier G, Aiach M, Rendu F. Importance of the FcγRIIa-Arg/His-131 polymorphism in heparin-induced thrombocytopenia diagnosis : *Thromb Haemost* 1998 ; 79 : 523-8
23. Lecrubier C, Lecompte T, Poitevin F, Horellou MH, Conard J, Samama M. Platelet aggregation tests in 26 cases of heparin-induced thrombocytopenia. Methodological, diagnostic problems and therapeutic aspects : *J Mal Vasc* 1987 ; 12, S128-S132
24. Stewart MW, Etches WS, Boshkov LK, Gordon PA. Heparin induced thrombocytopenia : an improved method of detection based on lumi-aggregometry. *Br J Haematol*, 1995, 91, 173-177.
25. Tomer A. A sensitive and specific functional flow cytometric assay for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Br. J. Haematol*, 1997, 98, 648-56
26. Samama MM, Elalamy I, Lecrubier C, Potevin F, Horellou MH, Conard J
Heparin-induced thrombopenia : significance and difficulties of precise identification of the immunologic mechanism. *Bull Acad Natl Med* 1998; 182(7) :1517-33
27. Trossaert M. Gaillard A. Commin PL. Amiral J. Vissac AM. Fressinaud E. High incidence of anti-heparin/platelet factor 4 antibodies after cardiopulmonary bypass surgery. *Br J Haematol*, 1998 : 101(4) : 653-5
28. Bauer TL, Arepally G, Konkle BA, et coll. Prevalence of heparin-associated antibodies without thrombosis in patients undergoing cardiopulmonary bypass surgery. *Circulation* 1997; 95 :1242-6
29. Walenga JM, Jeske WP, Fasanella AR, Wood JJ, Bakhos M Laboratory tests for the diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Semin Thromb Hemost* 1999 ; 25 Suppl 1:43-9
30. Newman PM, Swanson RL, Chong BH. Heparin-induced thrombocytopenia : IgG binding to PF4-heparin complexes in the fluid phase and cross-reactivity with low molecular weight heparin and heparinoid : *Thromb Haemost* 1998 ; 80 : 292-7
31. Izbán KF, Lietz HW, Hoppensteadt DA, Jeske WP, Fareed J, Bakhos M Walenga J. Comparison of two PFA/heparin Elisa assays for the laboratory diagnosis of heparin-induced thrombocytopenia. *Semin Thromb Hemost* 1999 ; 25 Suppl 1 : 51-6
32. Recommandations du GEHT : utilisation des héparines en pratique médicale courante. *Sang Thrombose Vaisseaux* 1996; 8 : 5-13
33. Wilde M, Markham A. Danaparoid : a review of its pharmacology and clinical use in the management of heparin-induced thrombocytopenia : *Drugs* 1997; 54 : 903-24
34. Magnani HN. Orgaran (Danaparoid sodium) use in the syndrome of heparin-induced thrombocytopenia : *Platelets* 1997 ; 8 : 74-81

- 35.** Vun CM, Evans S, Chong BH. Cross-reactivity study of low molecular weight heparins and heparinoïd in heparin-induced-thrombocytopenia : *Thromb Res* 1996; 81 : 525-32
- 36.** Tardy-Poncet B, Reynaud J, Tardy B, et coll. Thrombopénie induite par l'héparine : traitement par l'ORG 10172 : tolérance et efficacité : *Presse Méd* 1996 ; 25 : 751-5
- 37.** Camez A. Recludan, le premier traitement de la thrombopénie induite par l'héparine (TIH) de type II : *Presse Méd* 1998 ; 27 : S28-S30
- 38.** Greinacher A, Volpel H, Janssens U, Hach-Wunderle V, Kemkes-Matthes B, Eichler P, Mueller-Velten HG, Potzsch B. Recombinant hirudin (lepirudin) provides safe and effective anticoagulation in patients with heparin-induced thrombocytopenia : a prospective study. *Circulation* 1999 Jan 5-12 ; 99 (1) : 73-80
- 39.** Greinacher A, Janssens U, Berg G, Bock M, Kwasny H, Kemkes-Matthes B, Eichler P, Volpel H, Potzsch B, Luz M. Lepirudin (recombinant hirudin) for parenteral anticoagulation in patients with heparin-induced thrombocytopenia. Heparin-Associated Thrombocytopenia Study (HAT) investigators. *Circulation* 1999 Aug 10 ; 100(6) : 587-93
- 40.** Huhle G, Hoffmann U, Song X, Wang LC, Heene DL, Harenberg J. Immunologic response to recombinant hirudin in HIT type II patients during long-term treatment. *Br J Haematol* 1999 Jul;106(1):195-201
- 41.** Warkentin TE. Heparin-induced thrombocytopenia. Pathogenesis, frequency, avoidance and management. *Drug Safety*. 1997, 17(5) : 325-41.
- 42.** Elalamy I, Lecrubier C, Potevin F, et coll. Absence of in vitro Cross-reaction of Pentasaccharide with the plasma heparin-dependent factor of twenty-five patients with heparin-associated thrombocytopenia : *Thromb Haemost* 1995; 74:1384-5
- 43.** Amiral J, Lormeau JC, Marfaing-Koka A, et coll. Absence of cross-reactivity of SR90107A/ORG31540 pentasaccharide with antibodies to heparin-PF4 complexes developed in heparin-induced thrombocytopenia : *Blood Coagul Fibrinolysis* 1997; 8:114-7
- 44.** Lewis BE, Walenga JM, Wallis DE. Anticoagulation with Novastan R (argatroban) in patients with heparin-induced thrombocytopenia and thrombosis syndrome : *Semin Thromb Hemost* 1997 ; 23 : 197-02

Etude de la lithiase rénale chez une population d'adultes tunisiens

F. NEFFATI*,
I. BEN SALEM*,
I. HELLARA*,
R. SAIDI**,
N. FREJ**,
H. SAAD**,
MF. NAJJAR*.

* Laboratoire de Biochimie
Toxicologie - CHU Monastir
5000 - Monastir - Tunisie
** Service d'Urologie - CHU
Monastir - 5000 - Monastir
Tunisie

Introduction

La lithiase rénale est une pathologie assez fréquente parmi l'ensemble des pathologies rénales et elle touche 2 à 4% de la population (1).

C'est une maladie multifactorielle où les habitudes alimentaires, le niveau socioéconomique et les maladies gastrointestinales jouent un rôle important. Son histoire se confond avec celle de l'humanité, mais son aspect est en constante évolution. Sous toutes ses formes, la lithiase reste une pathologie redoutable par ses répercussions sur la fonction rénale. Son diagnostic est actuellement certain grâce à l'évolution des techniques d'imagerie. Les moyens de traitement peu invasifs et disponibles permettent de diminuer l'impact de la pathologie sur le malade. La connaissance de la composition de la lithiase permet de prédire les mécanismes en cause de sa formation et en même temps de prévenir d'éventuelles récurrences.

Résumé : La lithiase rénale est une maladie fréquente et généralement bénigne. L'objectif de ce travail est d'étudier les caractéristiques épidémiologiques et biologiques d'une population de lithiasiques. **Patients et méthodes :** notre étude a porté sur 62 lithiasiques originaires du centre tunisien atteints de lithiases urinaires. Une étude épidémiologique et une exploration biologique ont été réalisées. **Résultats :** L'âge des patients varie de 17 à 74 ans dont 74,2% sont âgés de plus de 40 ans. Il s'agit d'une primo atteinte dans 67,7% des cas et de récurrence dans 32,3% des cas avec un délai de récurrence < 5 ans dans 30% des cas. Des antécédents familiaux de lithiase étaient présents dans 29% des cas. Une pathologie digestive en relation avec la lithiase était présente chez 24,2% de nos patients. La biologie était marquée par l'hypomagnésurie, l'hypocitraturie et la prédominance équivalente au niveau du sédiment urinaire des cristaux d'acide urique et d'oxalate de calcium. L'examen morphologique des calculs a montré que le type Ia prédomine au niveau de la superficie et de la section avec des pourcentages respectifs de 46,9 et 50%. La whewellite constitue aussi le composant majoritaire de la section et de la superficie, respectivement dans 50% et 37,5%. La lithiase de la femme était formée essentiellement d'oxalate de calcium (50%), alors que celle de l'homme était de composition variable. **Conclusion :** La lithiase rénale est une pathologie multifactorielle dont la biologie joue un rôle important dans sa prévention.

Notre travail consiste à recueillir des données épidémiologiques, radiologiques, biologiques et thérapeutiques de malades porteurs de lithiase urinaire et de les comparer à celles de la littérature pour essayer de tracer un profil épidémiologique tunisien et pouvoir se situer par rapport aux autres pays sur le plan radiologique et thérapeutique.

Patients et méthodes

Notre étude concerne 62 adultes (31 hommes et 31 femmes), âgés de 17 à 74 ans, hospitalisés dans le service d'urologie de l'hôpital universitaire Fattouma Bourguiba de Monastir pour lithiases urinaires et qui sont originaires du centre tunisien. Leurs dossiers étaient explorés de façon prospective.

L'étude épidémiologique reposait essentiellement sur l'interrogatoire des patients, afin d'identifier les malades (âge, sexe, origine, niveau socioéconomique...) et de

dégager les antécédents personnels et familiaux en relation avec la maladie lithiasique.

L'exploration radiologique, pratiquée pour la mise en évidence des calculs, comportait dans la plupart du temps un arbre urinaire sans préparation (AUSP) seul ou associé à d'autres techniques d'imagerie tel que l'urographie intraveineuse (UIV), l'échographie et plus rarement la tomodensitométrie et la scintigraphie.

L'exploration biologique était faite en ambulatoire et comportait le dosage des paramètres sanguins et urinaires suivants : le calcium, le magnésium, le phosphore, la créatinine, l'ionogramme et l'acide urique. Les urines de 24h ont servi aussi à la détermination des oxalates par la technique enzymatique colorimétrique à l'oxalate oxydase / peroxydase (2) (Sigma Diagnostics, Inc. USA) et du citrate par la technique de Millan modifiée (3). Tous les dosages étaient réalisés sur automate multiparamétrique Konelab™ (Thermo Electron Corporation). Sur les urines matinales, nous avons déterminé le pH urinaire, la recherche du sang et des leucocytes par les bandelettes réactives, la densité par un densimètre optique et l'étude de la cristallurie conjointement sur un homogénéisât de l'urine matinale fraîchement émise et sur le sédiment correspondant par microscopie optique.

L'examen morphologique des calculs récupérés était fait par stéréomicroscope et leurs analyses par spectrophotométrie infra-rouge.

Résultats

Etude épidémiologique

Le pic de fréquence de la maladie lithiasique se situait après 40 ans (74,2%). Le sexe ratio (H/F) étant de 1, mais une prédominance masculine était notée au niveau de la 5^e et la 6^e décennie alors que la prédominance féminine s'installait sur le reste des tranches d'âge. Le pic de fréquence lithiasique s'observait à partir de la 7^e décennie chez la femme et à la 5^e décennie chez l'homme (Figure1).

Le niveau socio-économique était jugé bas dans 25 cas (40,3%), moyen dans 29 cas (46,8%) et élevé chez 8 malades (12,9%).

Exploration clinique

Les patients étaient hospitalisés dans un tableau typique de colique néphrétique (58 cas) associée dans 6 cas à une hématurie, dans 12 cas à une pollakiurie, dans 6 cas à une dysurie, dans 10 cas à une infection urinaire dont 7 cas étaient des pyélonéphrites aiguës et dans 2 cas à une insuffisance rénale aiguë.

Des lithiases asymptomatiques étaient découvertes fortuitement dans 4 cas (un cas de syndrome prostatique, un cas de fuite urinaire et 2 cas lors de l'ablation d'une sonde JJ).

Dans 67,7% des cas, il s'agissait d'une primo atteinte, alors que 32,3% des cas étaient des récidives. Les délais entre la primo atteinte et la récurrence pour ces derniers variaient entre 1 et 46 ans avec une moyenne de 12 ans. Un taux de

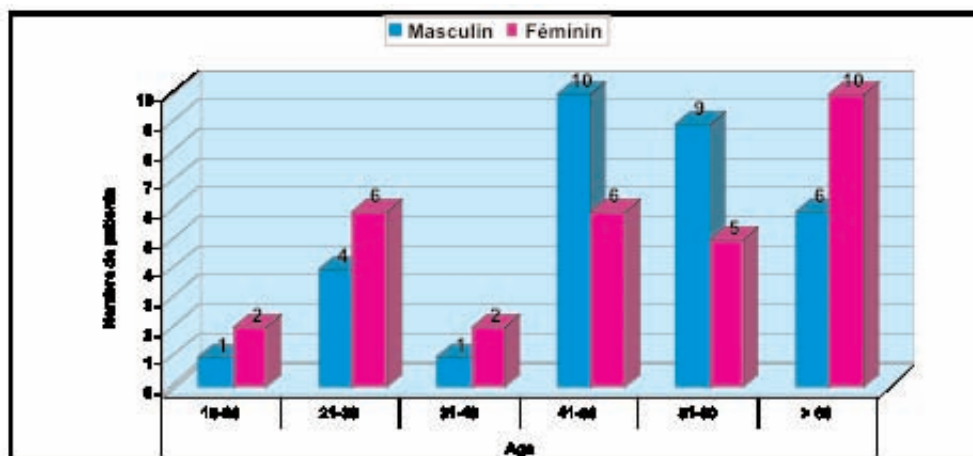


Figure 1 : Répartition des lithiases selon l'âge et le sexe.

récidive important était noté au bout de 5 ans et entre 11 et 20 ans (30% des cas) suivi de l'intervalle 6 à 10 ans (25% des cas) et enfin après 30 ans (15% des cas).

Nous retrouvons un premier pic de récidive à la 5^{ème} décennie et un autre après les soixante ans. Le risque de survenue de récidive était équivalent chez les deux sexes (Figure 2). Les antécédents personnels dévoilaient une importante fréquence des pathologies digestives. Les antécédents familiaux de lithiase urinaire étaient retrouvés dans 18 cas (29%) avec présence de lithiase chez l'un des parents dans 5 cas, chez la fratrie dans 4 cas et plus rarement chez les enfants, l'oncle, le cousin et la tante.

Seule la notion de sédentarité était rapportée dans 5 cas. Aucun cas de déshydratation, d'immobilisation prolongée, d'exposition aux facteurs toxiques ou de prise de médicaments lithogènes n'était rapporté.

L'interrogatoire des patients rapportait, dans 51 cas, la notion de boisson de volume insuffisant d'eau (< 1L/j) associée dans 12,9% (n=8) des cas à un excès de consommation de thé et dans 6,5% (n=4) à un excès de régime carné. Le reste des patients (17,7% des cas) affirmaient qu'ils suivaient un régime équilibré avec une bonne consommation d'eau.

Exploration radiologique

L'AUSP était pratiqué chez 60 patients. Dans 50 cas, l'AUSP visualisait des calculs radioopiques. Dans 10 cas, la lithiase était radiotransparente et confirmée à

l'échographie et/ou à l'urographie intra-veineuse et/ou à la tomодensitométrie.

L'UIV était faite chez 37 cas de notre série (59,7% des cas), l'échographie rénale chez 27 malades (43,5% des cas), la tomодensitométrie dans seulement 5 cas (8,1%) et la scintigraphie à la DMSA était pratiquée dans 2 cas (3,2%). Ces techniques d'imagerie ont permis de visualiser le retentissement des calculs sur les voies urinaires : 35 cas de dilatation des voies excrétrices, 8 cas d'altération du parenchyme rénal et un cas d'abolition de la fonction rénale.

La lithiase urinaire siégeait au niveau du haut appareil (rein et/ou uretère) dans les 62 cas avec une localisation surtout urétérale. Des calculs du bas appareil (vessie) étaient notés dans 6,4% des cas seulement mais associés à des calculs caliciels, pyéliqués ou urétéraux.

Le calcul urinaire était souvent unique et unilatéral (51,6% des cas). La taille des calculs de notre série varie de 2 à 40 mm : dans 1/3 des cas elle se situe entre 5 et 10 mm (surtout les calculs de la femme) et dans 25,8% des cas les calculs sont coralliformes (29% des calculs de l'homme et 22,6% des calculs de la femme).

Exploration biologique

La plupart des paramètres explorés étaient normaux. La créatininémie était augmentée et la créatininurie diminuée dans 2 cas d'insuffisance rénale aiguë fonctionnelle. Nous avons noté dans 4 cas, une augmentation du

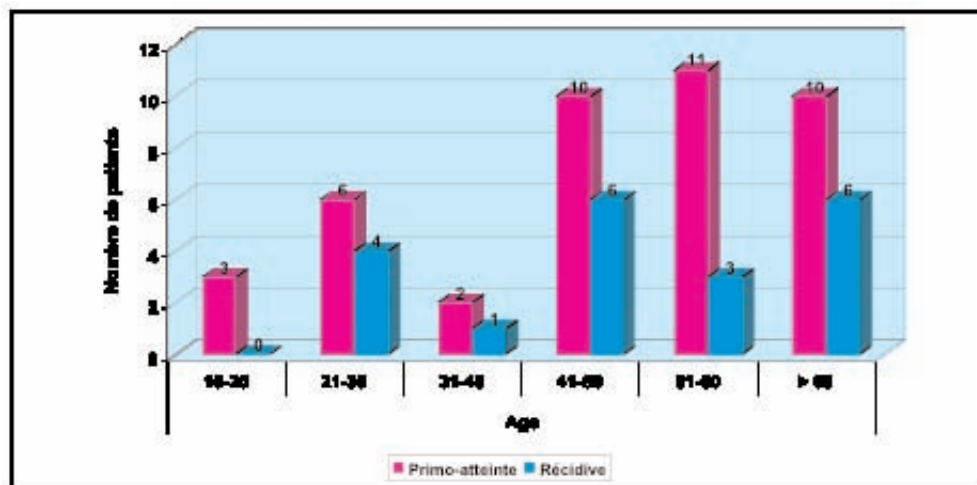


Figure 2 : Fréquence des récidives et de la primo atteinte en fonction de l'âge.

Etude de la lithiase rénale chez une population d'adultes tunisiens

calcium sanguin et urinaire avec une hypophosphorémie. Une hyperoxalurie était notée dans 11 cas. La diminution de la concentration de deux inhibiteurs de la lithogénèse, le citrate et le magnésium, était retrouvée respectivement dans 25 cas (58,1%) et 9 cas (18,8%). Le pH urinaire était acide (< 5) dans 18 cas et alcalin (> 6,5) dans 6 cas. D'après l'étude de la cristallurie et selon le nombre des sujets explorés, on note une fréquence équivalente de cristaux d'acide urique et d'oxalate de calcium. L'examen cytot bactériologique des urines était positif dans 6 cas dont un cas à germe uréasique. Une hématurie était rapportée dans 25 cas. Enfin, la densité urinaire était normale chez tous les sujets explorés.

Analyse des calculs

Des calculs et des fragments de calculs étaient respectivement récupérés dans 28 et dans 4 cas. Les fragments de calculs n'étaient pas récupérés chez 28 patients alors que dans 2 cas les calculs n'étaient pas extraits (lithiase asymptomatique).

Le type morphologique et la composition de la surface et de la section sont représentés respectivement par les

tableaux I et II. La whewellite était retrouvée dans 78,1% des cas au niveau de la section et dans 71,9% au niveau de la surface, alors que l'acide urique l'était respectivement dans 25,0% et 31,2%.

Les calculs analysés étaient essentiellement de morphologie irrégulière (71,9% des cas) et de consistance dure (78,1% des cas). Ils étaient de morphologie anguleuse dans 9,4% des cas et de consistance friable dans 21,9% des cas.

La section était de structure organisée dans 75,0% des cas. Le noyau était bien individualisé dans deux cas ; dans le premier cas, il était formé de whewellite et dans le deuxième d'une association de whewellite et d'urate d'ammonium. Chez les sujets jeunes (<50 ans), les calculs étaient essentiellement oxalocalciques et en particulier de type whewellite. A la 6^{ème} décennie, les calculs d'acide urique devenaient majoritaires. A partir de 60 ans, la composition des calculs se répartissait de façon équivalente entre l'oxalate de calcium et l'acide urique (Tableau III).

La lithiase féminine était formée essentiellement

Tableau I : Répartition en fonction du type morphologique de la surface et de la section

Type morphologique	Superficie		Section	
	Nombre	%	Nombre	%
Ia	15	46,9	16	50
IIIa	6	18,8	6	18,8
IIa	3	9,4	0	0
Ia+IVa1	2	6,3	2	6,3
Ia+IIIa	1	3,1	2	6,3
Id	1	3,1	0	0
IVc	1	3,1	1	3,1
IIa+IVa1	1	3,1	0	0
IIb	1	3,1	0	0
IIIId	1	3,1	0	0
IVd	0	0	1	3,1
IVa1+IVc	0	0	1	3,1
IVa1	0	0	1	3,1
IIb+IVa1	0	0	1	3,1
Ib	0	0	1	3,1
Total	32	100,0	32	100,0

article original

Tableau II : Répartition en fonction de la composition chimique de la surface et de la section.

Composition de la superficie et de la section	Superficie		Section	
	Nombre	%	Nombre	%
Wh	12	37,5	16	50
Au	6	18,8	6	18,8
Au + Wh	4	12,5	2	6,3
Wh + Wd	3	9,4	1	3,1
Ca + Wh	2	6,3	3	6,4
Ca + Wh + Wd	2	6,3	1	3,1
Wd	1	3,1	0	0
PAM	1	3,1	1	3,1
Ca + Wd	1	3,1	0	0
Wd + Wh + Br	0	0	1	3,1
Wh + plaque de Randall (protéines + TG)	0	0	1	3,1
Total	32	100,0	32	100,0

Wh : whewellite

Au : acide urique

Wd : wheddellite

Ca : carapatite

PAM : phosphate ammoniaco-magnésien

Br : brushite

TG : triglycérides

Tableau III : Composition des lithiases en fonction de l'âge

Composition du calcul	15-20	21-30	31-40	41-50	51-60	> 60	Total
Wh	1	3	-	4	2	2	12
Wd	-	-	-	1	-	-	1
Au	-	1	-	-	3	2	6
PAM	-	-	-	-	-	1	1
Au + Wh	-	1	-	-	1	2	4
Wh + Wd	1	1	-	-	1	-	3
Ca + Wd	-	-	-	1	-	-	1
Ca + Wh	-	-	-	1	1	-	2
Ca + Wh + Wd	-	-	1	-	1	-	2
Total	2	6	1	7	9	7	32

Wh : whewellite

Au : acide urique

Wd : wheddellite

Ca : carapatite

PAM : phosphate ammoniaco-magnésien

Etude de la lithiase rénale chez une population d'adultes tunisiens

d'oxalate de calcium (50,0% des cas) et dans 25,0% des cas d'acide urique. La lithiase masculine était de type variable mais surtout répartie entre l'oxalate de calcium et l'acide urique (Figure 3). Les sujets de niveau socio-économique bas et moyen présentaient des calculs essentiellement oxalocalciques, alors que les sujets de niveau socio-économique élevé présentaient surtout des lithiases uriques. La lithiase d'oxalate de calcium présentait le risque le plus important de récidive.

Les calculs de taille inférieure à 15 mm étaient essentiellement composés d'oxalate de calcium. Les calculs de taille supérieure à 15 mm mais inférieure à 25 mm, étaient également majoritaires en oxalate de calcium, mais à cette taille, le pourcentage de calculs uriques devenait important (28,6% des cas). Pour les calculs coralliformes, la composition était répartie entre l'oxalate de calcium, l'acide urique et l'association des deux composants.

lithiase d'infection dans 3% des cas.

Les sujets, qui présentaient des antécédents d'ulcère gastro-duodénal, ont développé des calculs essentiellement oxalocalciques associés à l'acide urique et au phosphate de calcium (carbapatite) dans 16,7% des cas pour chacun. Les gastralgies étaient associées dans tous les cas à une lithiase oxalocalcique (whewellite), alors que la résection intestinale était accompagnée de calcul d'acide urique. Les patients, ayant des antécédents d'hyperparathyroïdie, ont développé des calculs de type carbapatite associé à la whewellite dans 33,3% des cas et à la weddellite et la whewellite dans 66,7% des cas. L'hypercalcémie et l'hypercalciurie étaient associées à des calculs de type oxalocalcique et à des calculs de phosphate de calcium (carbapatite). L'hypophosphorémie s'accompagnait toujours de calcul de type carbapatite et elle était généralement associée à une hypercalciurie et

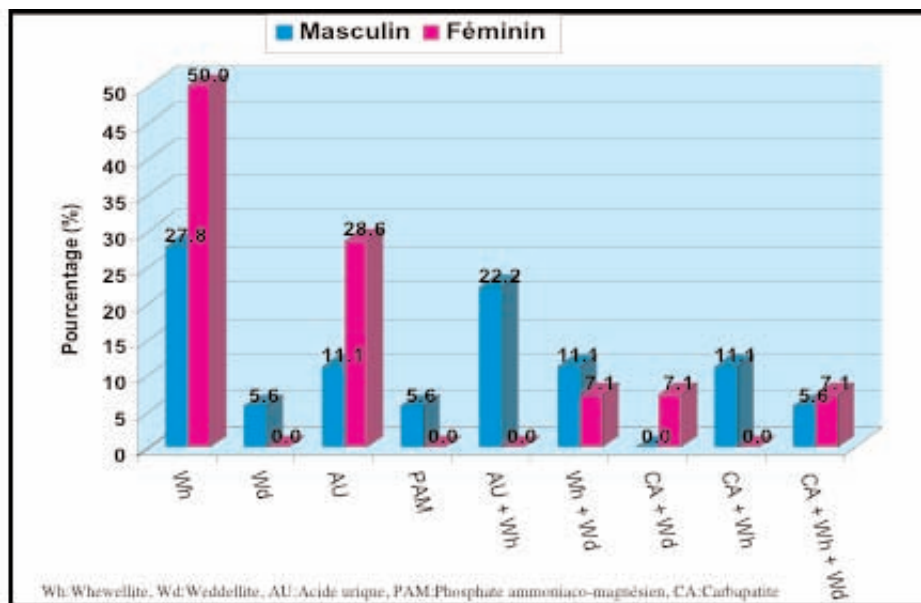


Figure 3 : Fréquence des différents composants en fonction du sexe

L'étiologie probable dégagée de l'analyse des calculs était une hyperoxalurie intermittente dans 34,4% des cas, une hyperuricurie dans 18,8%, l'association des 2 étiologies dans 12,5% des cas, une hyperoxalurie associée à une hypercalcémie dans 12,5% des cas et une

une hypercalcémie orientant vers une hyperparathyroïdie primaire. La diminution de magnésium sanguin et urinaire s'observait chez des sujets présentant des calculs essentiellement de type oxalocalcique. Dans un seul cas, une hypomagnésémie était notée en cas de lithiase urique

et dans un autre cas, elle était observée dans le cas de calcul de struvite. L'hyperoxalurie était associée toujours à une lithiase oxalocalcique (whewellite). L'hyperuricurie, observée dans un cas, était accompagnée de lithiase urique. L'hyperphosphaturie était associée dans un cas au calcul phospho-ammoniac-magnésien et dans un autre cas à la whewellite. L'hypocitaturie était notée toujours dans le cas de lithiase oxalocalcique associé dans 2 cas au phosphate de calcium.

Le pH urinaire alcalin accompagnait toujours les lithiases phosphatiques : la struvite dans un cas et la carapatite dans 2 cas. Cependant, le pH urinaire acide s'observait dans le cas de calcul d'acide urique dans 4 cas et oxalocalcique dans 5 cas.

Traitement

Le traitement symptomatique était instauré seulement dans 19 cas pour soulager la crise de colique néphrétique. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens en particulier le kétoprofène étaient utilisés dans 52,6% des cas et une association de phloroglucinol et de kétoprofène dans 26,3% des cas.

Le traitement curatif reposait sur l'utilisation de la chirurgie à ciel ouvert et l'urétéroscopie mais exceptionnellement sur la lithotritie extra corporelle (LEC). La répartition des différentes techniques utilisées ainsi que leurs indications sont présentées par le tableau IV.

Le traitement préventif reposait sur des mesures diététiques adaptées en fonction de l'étiologie dégagée de l'analyse de calcul, de l'étude de la cristallurie et des anomalies métaboliques observées lors de l'exploration biologique.

Discussions et commentaires

Epidémiologie

Depuis la fin du XIX^{ème} siècle, on a constaté en Europe et dans les autres pays industrialisés une augmentation de la lithiase rénale et une disparition progressive de la lithiase vésicale. Actuellement, les calculs rénaux représentent environ 90% de tous les calculs (4). Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés dans notre étude. En effet, tous les cas explorés avaient des calculs de localisation rénale associés dans 6,4% des cas seulement à des calculs du bas appareil.

L'absence de différence entre les deux sexes concernant la prédisposition d'atteinte de lithiase retrouvée dans notre série, ne concorde ni avec l'étude de Daudon et al (5) concernant les pays en voie de développement en 2004, ni avec la prédominance masculine rapportée par Jungers et al (6) dans les pays industrialisés depuis 1989, mais rejoint la constatation de Moesch (4) qui affirme la progression de cette pathologie dans le sexe féminin.

La lithiase rénale de nos patients touche essentiellement les sujets âgés (> 40 ans) avec une fréquence faible chez les sujets jeunes. Les pics de fréquence retrouvés ne concordent pas avec celui rapporté par Daudon et al (5) où le pic se situe à des âges plus jeunes. Cependant, les résultats trouvés dans notre étude rejoignent le profil évolutif de la lithiase vers une augmentation de fréquence chez les sujets âgés et une diminution de fréquence chez les jeunes.

Les calculs oxalocalciques sont majoritaires et nos résultats montrent que la lithiase calcique est plus fréquente chez la femme que chez l'homme, ce qui s'oppose à la prédominance masculine de la lithiase calcique mentionnée dans plusieurs études (5, 7, 8) jusqu'à la dernière décennie. Nous avons noté aussi une modification de la composition des calculs avec l'âge où la fréquence des calculs uriques devient importante à partir de 50 ans. Des modifications métaboliques liées au vieillissement cellulaire, ainsi qu'une modification des habitudes alimentaires chez les sujets âgés peuvent expliquer ces changements (9). Dans notre série, les calculs de la femme étaient essentiellement de taille moyenne (< 10 mm) alors que les calculs de l'homme étaient de taille variable, mais les plus fréquents sont coralliformes (29,0%) ; par contre, ce type de calcul représentaient 22,6% du total chez la femme ceci ne s'accorde pas avec l'étude de Joual et al (10) qui rapporte que les femmes sont deux fois plus touchées que les hommes par la lithiase coralliforme.

Dans 1/3 des cas à peu près, des antécédents familiaux de lithiase étaient rapportés, ce qui prouve l'existence d'une hérédité lithiasique probable prédisposant les sujets. Les antécédents pathologiques et en particulier les pathologies digestives tel que l'ulcère gastro-duodénal, la gastralgie...favorisent la survenue de lithiase en

Etude de la lithiase rénale chez une population d'adultes tunisiens

Tableau IV : Répartition des différentes techniques de traitement en fonction de la taille des calculs.

Taille des calculs (mm)		< 5	5 -10	10 -15	> 15	> 25 (coralliforme)	Total
Lithotritie extracorporelle	Non efficace	-	-	1	-	1	2
	Faite	-	2	-	2	-	4
Urétéroscopie rétrograde	Faite	3	12	8	2	-	25
	non efficace	-	1	-	-	-	1
Traitement chirurgical	LPL	-	3	1	5	11	20
	LVP	-	1	-	1	1	3
	Néphrectomie	-	-	-	-	2	2
	Hemi-néphrectomie	-	-	-	-	1	1
Total		3	19	10	10	16	58*

LPL : lombotomie postéro-latérale

LVP : lombotomie vertébro-postérieure

* Deux patients présentaient une lithiase asymptomatique et deux autres ont expulsé spontanément leur calcul.

Ces sujets n'ont pas subi donc d'intervention pour l'extraction du calcul.

modifiant l'absorption de certains aliments notamment les lithogènes. L'hyperparathyroïdie diagnostiquée dans 4 cas après l'analyse du calcul, était directement associée à un risque de lithiase oxalophosphatique et dont l'exérèse permet d'éviter les récides.

Dans notre étude, nous avons retrouvé que les calculs chez la classe sociale défavorisée étaient essentiellement oxalocalciques, alors que ceux chez les sujets de niveau socio-économique élevé étaient de nature surtout urique, ce qui concorde avec le profil épidémiologique observé avant le XIX^{ème} siècle dans les pays développés (1). Les comportements nutritionnels inadaptés constituent un facteur prédisposant majeur à la lithiase. L'anomalie la plus constatée chez les lithiasiques interrogés étant l'insuffisance de volume de boisson, ce qui favorise l'augmentation de la concentration des solutés lithogènes.

L'excès de consommation de thé (12,9% des cas), l'aliment le plus riche en oxalate d'après l'étude de Najjar et al (11), favorise l'hyperoxalurie (calcul de whewellite), ce qui explique l'importance de

l'hyperoxalurie intermittente dégagée dans notre étude et qui traduit un apport nutritionnel excessif d'aliments riches en oxalates. Le régime carné excessif favorise, en plus de l'hyperuricurie et des calculs d'acide urique, une hyperoxalurie secondaire.

Manifestations révélatrices

La colique néphrétique reste le signe révélateur majeur de la lithiase urinaire (58 cas) et elle peut être associée dans certains cas à une hématurie ou à d'autres signes urinaires (dysurie et pollakiurie). Des lithiases asymptomatiques peuvent être découvertes fortuitement lors d'hospitalisation pour d'autres raisons : prise en charge d'un syndrome prostatique, d'une fuite urinaire, etc... (12).

La plupart des patients étaient hospitalisés pour une primo atteinte de la maladie lithiasique, mais on note un taux important de récidence (32,3%) avec un pic à partir de 50 ans survenant au bout de 5 ans dans 30% des cas. Ceci est en faveur d'une lithiase métaboliquement active ou d'une mauvaise prise en charge de ces sujets, du moins sur le plan diététique, lors de la première hospitalisation.

Diagnostic radiologique

L'AUSP reste l'examen radiologique le plus demandé. Il permet de visualiser les calculs radio-opaques, mais il ne permet ni le diagnostic des lithiases radiotransparentes, ni l'exploration de l'état des voies excrétrices et du parenchyme rénal, ceci s'accorde avec ce qui est rapporté par la littérature (1,6,13). C'est pour cela, qu'il est souvent associé à L'UIV et/ou à l'échographie. La tomodensitométrie est aussi une technique efficace et sûre dans le diagnostic des calculs urinaires mais elle reste une technique onéreuse (14,15), ce qui explique la fréquence réduite de son utilisation (5 cas seulement)

Explorations biologiques

Un pH acide oriente vers une lithiase urique, alors qu'un pH alcalin oriente vers une lithiase phosphatique.

L'hématurie, dépistée chez certains sujets, peut être un signe révélateur de la maladie lithiasique et elle traduit le saignement de la muqueuse en contact d'un calcul. La cristallurie serait plus intéressante avec un microscope à lumière polarisée pour une meilleure distinction des différentes phases cristallines ; seulement, la microscopie classique permet déjà la mise en évidence des principaux types de cristaux avec une bonne précision en particulier avec des personnes expérimentées. Toutefois, il faut insister sur une exploration biologique en dehors de l'hospitalisation, ce qui reflète la situation réelle des malades et explique la négativité de la plupart des résultats. L'analyse chimique montre que la moitié de ces calculs sont composés de whewellite en particulier de type Ia, dont l'étiologie est une hyperoxalurie intermittente, ceci concorde avec le résultat rapporté par Jungers et al (6) en France. En effet, l'oxalate de calcium est le constituant prépondérant des calculs avec une fréquence de calculs de whewellite qui dépasse les 52,9%. La prédominance de calculs oxalocalciques monohydratés a été aussi montrée par Daudon et al (5) au niveau des pays en voie de développement avec un taux qui dépasse 63,5% des calculs analysés en Asie mineure et de 55,5% pour les calculs d'Afrique de Sud. Les calculs uriques de type IIIa due à une hyperuricurie sont retrouvés dans 18,8% des cas et une fréquence équivalente a été observée pour les calculs phosphatiques avec dans

3,1% des cas une lithiase d'infection et dans 15,6% des cas une lithiase oxalophosphatique, ce qui s'accorde avec l'étude de Daudon et al (5) qui rapporte des fréquences de lithiase urique de l'ordre de 18,3% en France et elle est à peu près la même dans les pays en voie de développement, mais la lithiase d'infection est plus fréquente (10,2%) surtout chez la femme des pays en voie de développement. La diminution de la fréquence de calcul de struvite en Tunisie peut être expliquée par l'amélioration de nos moyens de prise en charge de l'infection urinaire. Les anomalies digestives tel que l'ulcère gastro-duodéal ou les gastralgies s'accompagnent essentiellement de calcul oxalocalcique. En effet, ils favorisent l'absorption d'oxalate alimentaire libre non complexé au calcium et au magnésium (16).

L'hyperparathyroïdie a été dans tous les cas associée à des calculs de type carbapatite, ceci est confirmé par la littérature (6,17). L'hypercalcémie, l'hypercalciurie ou l'hyperoxalurie favorisent le développement de lithiase oxalocalcique (1,6). Dans le cas de lithiase d'infection, les germes ureasiques favorisent la synthèse d'ammonium qui s'associe au phosphate présent en excès et au magnésium pour donner le calcul de phosphate ammoniacomagnésien ou struvite (6). Le magnésium et le citrate urinaires sont de puissants inhibiteurs de la croissance et de l'agrégation de calculs oxalocalciques (1,18), ce qui explique l'association qu'on a trouvée entre l'hypomagnésurie, l'hypocitraturie et le développement de calculs whewelliques ou weddelliques. Ainsi, l'exploration biologique reste importante dans le diagnostic des anomalies métaboliques responsables de lithiase urinaire puisqu'elle permet de poser sur des bases rationnelles des mesures diététiques adaptées, mais seulement il faut respecter les conditions de leur réalisation pour avoir des résultats interprétables (6,16).

Traitement

Le traitement symptomatique de la colique néphrétique repose surtout sur les AINS (Kétoprofène) qui permettent un soulagement de la douleur par inhibition de la synthèse de prostaglandines associées parfois à un antispasmodique (Phloroglucinol), ce qui concorde avec le

protocole standard de traitement symptomatique de manifestations lithiasiques (6,19).

Etant donné que le plateau technique disponible est incomplet, la stratégie idéale de traitement selon la taille et la localisation ne peut pas être respectée (la néphrolithotomie percutanée (NLPC) et la LEC ne sont pas disponibles). La LEC est non invasive et sûre mais son taux de succès reste conditionné par la taille, le siège, la structure et surtout la composition des calculs (6). Les calculs durs et de taille importante sont résistants aux ondes de chocs, ce qui justifie d'ailleurs son inefficacité dans deux cas et le recours à ce moment à la LVP en 2^{ème} intention. L'urétéroscopie a été pratiquée surtout pour les calculs du type pyélo-urétéral et de taille < 15 mm ; et d'ailleurs, c'est la technique de choix pour ce type de calcul (20,21) qui s'est caractérisée par un taux de succès important (96,2%), concordant avec l'étude de Kasmaoui et al (22), qui rapportent un taux de succès global de l'urétéroscopie de 77,6% et qui atteint 85,4% pour les calculs de l'uretère pelvien. Contrairement à ce qui a été rapporté par la littérature (1,6), l'utilisation de la chirurgie à «ciel ouvert» n'était pas exceptionnelle, et a constitué le traitement de choix. Chaque calcul de consistance, de taille, de localisation non accessible par l'urétéroscopie ou lorsque le traitement par la LEC n'est pas disponible, sera traité par la chirurgie. Cependant, selon ce qui a été rapporté par Sandhu et al (23) et Meria et al (21), le traitement des calculs urinaires fait appel aujourd'hui essentiellement aux techniques non invasives (LEC, NLPC et urétéroscopie) et la chirurgie à «ciel ouvert» est réservée seulement à de rares cas où les techniques citées auparavant seront inefficaces. Ceci concerne surtout les pays développés. Généralement, les techniques employées ont réussi à extraire tous les calculs présents surtout dans le cas de lithiase unilatérale.

Les calculs résiduels post-traitement se trouvent dans le côté opposé à celui qui a subi l'intervention et ils sont dans la plupart du temps asymptomatiques (de petite taille) sinon ils nécessitent une intervention moins invasive par la LEC par exemple.

Prévention

Le traitement préventif a pour but de diminuer le risque de récurrence de la lithiase urinaire. Il s'agit surtout d'insister sur l'importance de boire de grande quantité

d'eau (> 2L/j) avec une bonne répartition nyctémérale chez tous les sujets quelle que soit l'étiologie. En cas d'hyperoxalurie intermittente, les mesures diététiques reposent essentiellement sur la diminution de consommation d'aliments riches en oxalate et notamment le thé (en effet, les tunisiens sont des grands consommateurs de thé) (11). En cas d'hyperuricurie, il faut boire une eau de boisson plutôt alcaline, favorisant la solubilisation des cristaux d'acide urique. Un régime riche en protéine favoriserait et l'hyperoxalurie et l'hyperuricurie. En cas d'hypercalciurie, il faut modérer les apports en calcium et éviter surtout la restriction totale qui risque d'augmenter encore plus l'élimination urinaire d'oxalate.

Conclusion

D'après notre étude, nous constatons que faute de moyens, le traitement de choix reste encore la chirurgie à ciel ouvert qui est toujours efficace mais à proscrire si on possède un autre moyen de traitement moins invasif. De plus les techniques de diagnostic les plus sophistiquées restent encore limitées à certaines situations particulières ce qui augmente le nombre des examens plus ou moins efficaces subits par le malade et retarde encore la mise en évidence du calcul. Enfin le profil épidémiologique global tunisien rejoint celui observé dans les pays développés surtout concernant la prédominance des calculs oxalocalciques et la modification de la localisation des calculs, mais elle traduit dans d'autres aspects, la lithiase observée dans les pays en voie de développement notamment en ce qui concerne la composition majoritaire en acide urique des calculs de classe sociale favorisée. Sommes-nous donc dans une situation intermédiaire entre les pays industrialisés et les pays en voie de développement du fait de l'amélioration du niveau de vie au cours de ces dernières années ? Le profil épidémiologique tunisien présente en plus une particularité concernant la répartition en fonction du sexe avec des caractéristiques de la lithiase féminine complètement opposées à celles rapportées par les études dans les pays industrialisés. Traduit-elle donc un nouvel aspect évolutif de la lithiase urinaire avec une augmentation de la prédisposition féminine ?

On pense qu'une étude à plus large échelle comportant un plus grand nombre de patients des différentes régions de la Tunisie, permettrait de mieux estimer la fréquence de la lithiase urinaire, sa répartition en fonction de l'âge et du sexe, sa relation avec nos habitudes alimentaires et enfin le rôle de l'hérédité dans cette pathologie.

Références

- 1- Jungers P, Daudon M, Le Duc A. Lithiase urinaire. Paris, Flammarion Médecine-sciences ; 1989.
- 2- Yriberry J, Posen S. A semi-automatic enzymatic method for estimating urinary oxalate. *Clin Chem* 1980 ; 26 : 881-884.
- 3- Mezzour H, Neffati F, Najjar MF. Détermination des citrates urinaires par une variante de la méthode de Millan. *Ann Biol Clin* 2005; 63 (3) : 297-303.
- 4- Moesch C. Données épidémiologiques-caractéristiques et évolution de la lithiase urinaire. *L'Eurobiologiste* 1993 ; 203 : 21-28.
- 5- Daudon M, Bounxouei B, Santa Cruz F, Leite Da Silva S, Diouf B, Angwafoo FF et al. Composition des calculs observés aujourd'hui dans les pays non industrialisés. *Prog Urol* 2004 ; 14 : 1151-1161.
- 6- Jungers P, Daudon M. Lithiase rénale : diagnostic et traitement. Paris. Flammarion Médecine-Sciences ; 1990.
- 7- Neuzillet Y, Lechevallier E, Ballanger PH, Ferriere JM, Saussine C, Doré B et al. Lithiase urinaire chez le sujet âgé de plus de 60 ans. *Prog Urol* 2004 ; 14 : 479-484.
- 8- Sriboonlue P, Prasongwatana V, Chata K, Tungsanga K. Prevalence of upper urinary tract stone disease in a rural community of North-eastern Thailand. *Br J Urol* 1992 ; 69 : 240-244.
- 9- Daudon M. Evolution de la composition et de la localisation des calculs chez le sujet âgé. *Feuillets de Biologie* 2003; 251:51-54.
- 10- Joual A, Rais H, Rabii R, El Mrini M, Benjelloun S. Epidémiologie de la lithiase urinaire. *Ann Urol* 1997; 2:80-83.
- 11- Najjar MF, Ben Amor MA, Oueslati A, Chemli R, Garnaoui N, Boukef K et al. Oxalate alimentaire et risque lithiasique en Tunisie. *Lyon Pharmaceutique* 1987; 5:291-296.
- 12- Glowacki LS, Beecroft ML, Cook RJ, Pahl D, Churchill DN. The natural history of asymptomatic urolithiasis. *J Urol* 1992 ; 147 : 319-321.
- 13- Portis AJ, Sundaram CP. Diagnosis and initial management of kidney stones. *Am Fam Phys* 2001 ; 7 : 1329-1338.
- 14- Whitfield HN. The management of ureteric stones. Part I : diagnostic. *Br J Urol Int* 1999 ; 84 : 911-915.
- 15- Heidenreich A, Desgranschamps F, Terrier F. Modern approach of diagnosis and management of acute flank pain : review of all imaging modalities. *Eur Urol* 2002; 41:351-362.
- 16- Normand M. Exploration métabolique des lithiases rénales : investigations statiques et dynamiques. *L'Eurobiologiste* 1993 ; 203 : 57-62.
- 17- Jungers P, Knebelmann B, Daudon M, Lacour B. Exploration biologique des lithiases urinaires. *L'Eurobiologiste* 2001 ; 253 : 48-56.
- 18- Ettinger B, Pak CYC, Citron JT, Thomas C, Adams-Huet B, Vangessel A. Potassium-magnesium citrate is an effective prophylaxis against recurrent calcium oxalate nephrolithiasis. *J Urol* 1997 ; 158 : 2069-2073.
- 19- Knoll T, Alken P, Michel MS. Progress in management of ureteric stones. *EAU Update Series* 2005 ; 3 : 44-50.
- 20- Conort P, Doré B. Indications du traitement symptomatique et urologique des calculs urinaires. *L'Eurobiologiste* 2001 ; 254 : 67-71.
- 21- Meria P, Le Duc A. Stratégie thérapeutique des calculs urinaires. *Ann Urol* 2003 ; 37 : 258-360.
- 22- Kasmaoui EH, Ghadouane M, Jira H, Alami M, Ouhbi Y, Abbar M. Le traitement des calculs de l'uretère par utéroscope rigide, à propos de 67 cas. *Ann Urol* 2001; 35:207-209.
- 23- Sandhu C, Anson KM, Patel U. Urinary tract stones-part II : current status of treatment. *Clin Radiol* 2003 ; 58 : 422-433.

A propos d'un cas de rhabdomyolyse toxique à la paraphénylène diamine

Z. OUZZIF*,
S. SIYAH**,
L. OUAMMI***,
H. BELKHI**,
M. DEROUICHE*.

* Laboratoire de biochimie,
hôpital militaire d'instruction
Mohamed V, Rabat

** Service d'anesthésie et
réanimation,
hôpital militaire d'instruction
Mohamed V, Rabat

***Centre anti-poison, Rabat

Introduction

La paraphénylène diamine (PPD) est une amine aromatique dérivée de l'aniline [1]. Ce produit est utilisé depuis longtemps par les femmes au Maroc mais également au Soudan, en Tunisie, en Inde et au Pakistan comme colorant des cheveux dans les teintures, en association ou en remplacement du Henné [2]. Absorbée par voie orale, la PPD a une toxicité systémique redoutable qui a conduit les gens à l'utiliser dans un but abortif, suicidaire ou criminel. Le tableau clinique est marqué par l'installation rapide d'une détresse respiratoire par asphyxie et d'une rhabdomyolyse aiguë sévère. Au Maroc, l'intoxication à la PPD représente un véritable problème de santé publique, puisqu'elle intéresse une population jeune et qu'elle engendre une mortalité élevée [3].

Nous rapportons un cas de rhabdomyolyse toxique à la paraphénylène diamine dans un but d'autolyse.

Résumé : L'intoxication aiguë par la paraphénylène diamine (PPD), substance minérale utilisée comme teinture capillaire, représente un véritable problème de santé publique au Maroc. En effet, elle intéresse une population jeune et engendre une mortalité élevée. Le tableau clinique comporte un syndrome asphyxique par œdème cervical et une rhabdomyolyse aiguë sévère.

Nous rapportons un cas de rhabdomyolyse toxique par ingestion volontaire de PPD dans un but d'autolyse dont l'évolution était favorable en raison d'une prise en charge thérapeutique précoce. La vente libre de ce produit devra être interdite par les pouvoirs publics.

Mots clés : Paraphénylène diamine / rhabdomyolyse toxique / intoxication.

Rhabdomyolysis from parphenylene diamine poisoning.

About a case

Summary : Acute intoxication with parphenylene diamine, a mineral compound used as hair dye, represents a real public health problem in Morocco. It is responsible for an important mortality at the young topics. It associates asphyxia due to cervical oedema and rhabdomyolysis.

We report the case of a patient with rhabdomyolysis from PPD poisoning which had a favourable evolution. The selling of PPD hair dye should be restricted by law.

Key words : Parphenylene diamine/ rhabdomyolysis/ poisoning.

Observation

Madame M., 23 ans, est admise aux urgences quatre heures après l'ingestion d'une quantité indéterminée de paraphénylène diamine (PPD) dans un but suicidaire suite à des contentieux conjugaux. Consciente mais agitée, elle présente une détresse respiratoire aiguë ayant conduit à une trachéotomie de sauvetage après sédation et analgésie. Un lavage gastrique par du sérum physiologique avait ramené un liquide noirâtre dont un échantillon ainsi que des prélèvements sanguins et urinaires sont acheminés au laboratoire pour analyse toxicologique. L'interrogatoire révèle l'installation dès la deuxième heure après l'intoxication de vertiges, de vomissements abondants associés à des douleurs épigastriques puis abdominales généralisées et des myalgies diffuses responsables d'une impotence fonctionnelle. L'examen clinique met en évidence un important œdème cervico-facial avec une macroglossie et des masséters

durs à la palpation. L'état hémodynamique de la patiente est stable et sa diurèse conservée. Aucune anomalie électrocardiographique n'est observée sur les tracés répétés et la radiographie pulmonaire de face est normale.

Les explorations biologiques initiales révèlent une importante lyse musculaire attestée par l'élévation de l'activité de la créatine phosphokinase à 5000 UI/L, de CK-MB à 300 ng/mL, des transaminases (SGOT) à 220 UI/L, de la lactico-déshydrogénase (LDH) à 2800 UI/L et de la myoglobine à 1000 ng/mL. L'examen aux bandelettes réactives d'un échantillon urinaire montre une protéinurie et une hématurie (3 croix). L'hémogramme objective une leucocytose à 18 000/mm³ avec 94% de polynucléaires neutrophiles. Il existe en outre une hypocalcémie à 1.58 mmol/L sans hypoalbuminémie. Le bilan d'hémostase ainsi que l'ionogramme et la gazométrie sont normaux.

A heure + 18 de l'admission, le tableau de rhabdomyolyse est devenu évident, avec gonflement et durcissement des parties molles surtout au niveau des membres inférieurs, des urines de plus en plus foncées, des taux encore plus élevés des enzymes et protéines musculaires (CPK à 45 000 UI/L avec CK-MB à 3500 ng/ml, ASAT à 4500 UI/L, LDH à 5800 UI/L et Myoglobine à 6000 ng/mL). Le taux de troponine T cardiaque demeure cependant normal attestant de l'absence de toute atteinte du myocarde. L'analyse chromatographique par CLHP avec détection à barrettes de diodes a permis de confirmer la présence de PPD dans les urines et le liquide de lavage gastrique.

Le traitement initial comporte un remplissage vasculaire abondant par du sérum salé à 0.9% afin de prévenir l'installation d'une insuffisance rénale, avec alcalinisation pour maintenir le pH urinaire au dessus de 6 et une corticothérapie dans le but de diminuer l'œdème cervico-facial. L'évolution est favorable avec régression puis disparition complète de l'œdème et rétrocession des troubles respiratoires le jour suivant justifiant l'extubation. Le bilan clinique et biologique pratiqué quatre semaines après la sortie du malade se révèle normal.

Discussion

La PPD a pour formule chimique [C₆H₄(NH₂)₂], synonyme de para diamino benzène (Figure n°1). Elle se présente sous forme de poudre ou de cristaux incolores ou jaunâtre et brunit à la lumière jusqu'au noir [1]. L'intoxication à la PPD est peu connue en Occident mais assez répandue dans les pays d'Afrique, d'Asie et du Moyen Orient où la PPD est aisément accessible et souvent utilisée sous forme pure ou mélangée [2, 3]. Depuis les premiers cas d'intoxication systémique à la PPD rapportés au Maroc en 1978, les jeunes filles, en particulier, ont de plus en plus recours à l'ingestion de ce produit dans un but d'autolyse [4]. L'incidence exacte, faute de disponibilité d'un registre, n'est pas encore déterminée [5]. Néanmoins, l'intoxication à la PPD représente dans certaines structures la première cause d'admission en réanimation [5]. La PPD est un toxique lésionnel à tropisme musculaire [6]. Chez l'homme, la dose toxique est estimée à 3g et la dose létale à 10g [1]. Après un intervalle libre de deux heures, l'ingestion de PPD provoque l'apparition d'une sensation de brûlures bucco pharyngées, de sialorrhées et de myalgies souvent intenses [7,8]. L'œdème cervico-facial est dans la plupart des cas le motif de consultation aux urgences. Il est responsable d'une détresse respiratoire asphyxique et nécessite une intubation trachéale en urgence voire même la pratique d'une trachéotomie de sauvetage lorsque il est avancé [8,9]. Ce gonflement serait dû à l'augmentation de la perméabilité des vaisseaux sanguins par la composante allergique de la PPD lors du contact de celle-ci avec les

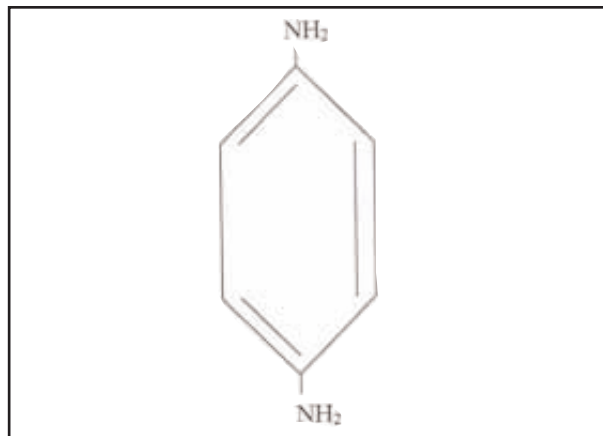


Figure n°1 : Formule chimique de la PPD

A propos d'un cas de rhabdomyolyse toxique à la paraphénylène diamine

tissus au moment de l'ingestion [9,10]. Le syndrome de rhabdomyolyse est constant, attesté par des myalgies diffuses pouvant confiner à l'impotence fonctionnelle [1,3], comme dans le cas rapporté.

Tous les muscles peuvent être touchés y compris le diaphragme et les muscles respiratoires. Cette toxicité musculaire, bien établie sur le plan expérimental et mise en évidence chez l'homme, confirme l'affinité de la PPD pour le muscle. La rhabdomyolyse du myocarde a été reconnue en 1996 par Zeggwagh [11]. Il semble exister une corrélation entre la dose de PPD ingérée et la toxicité cardiaque. L'insuffisance rénale aiguë à diurèse conservée ou oligoanurique est de règle. Dans l'observation rapportée, comme dans d'autres cas, il n'a pas été noté de rhabdomyolyse du myocarde ni d'insuffisance rénale.

Les différentes anomalies biologiques observées lors de l'intoxication à la PPD sont d'une grande valeur diagnostique. L'élévation de l'activité des CPK confirme le diagnostic de rhabdomyolyse. Les taux sériques des CPK atteints sont très élevés dépassant parfois 100000 UI/L. L'augmentation de la fraction CKMB dans les rhabdomyolyses intenses ne témoigne pas obligatoirement d'une nécrose myocardique associée [1.5].

L'activité des LDH et des ASAT est également élevée [2]. La myoglobinemie est souvent importante, reflétant la sévérité de l'atteinte musculaire. L'hyperkaliémie est menaçante et plus importante que ne le voudrait l'acidose [3]. Elle est liée à la nécrose cellulaire. Son absence n'exclut pas le diagnostic de rhabdomyolyse, surtout si la fonction rénale est normale comme dans l'observation rapportée. Une hyperphosphorémie liée au relargage des phosphates musculaires et une hypocalcémie en rapport avec une précipitation calcique tissulaire notamment des muscles lésés peuvent également être notées [1], comme dans cette observation. L'uricémie est également augmentée par hyperproduction hépatique à partir des nucléotides musculaires [3]. L'hyperkaliémie, l'hypocalcémie, l'hyperphosphorémie et l'hyperuricémie constituent les complications de l'intoxication à la PPD qui sont communes à toutes les rhabdomyolyses [1]. La protéinurie serait liée à une altération de la perméabilité glomérulaire et de la réabsorp-

tion tubulaire des protéines de bas poids moléculaire [2]. Le reste du bilan biologique révèle une vitesse de sédimentation accélérée du fait du syndrome inflammatoire et une hyperleucocytose à prédominance de polynucléaires neutrophiles [2].

L'analyse toxicologique permettant de confirmer la présence de PPD peut être pratiquée au niveau des liquides biologiques (sérum, urines, liquide gastrique), sur des viscères en post-mortem ou encore dans les produits incriminés. Elle utilise des méthodes colorimétriques qui sont communes à toutes les amines aromatiques mais peu spécifiques et des méthodes physiques spectrométriques comme la spectrométrie infra rouge et chromatographiques notamment la CPG et la CLHP [2].

Dans le cas rapporté, l'identification et le dosage de PPD ont été réalisés dans le liquide de lavage gastrique (LLG) par CLHP couplée à un détecteur à barrettes de diode.

Le temps de rétention et le spectre obtenus ont été comparés à ceux d'une solution témoin de PPD à 5 ng/L, préparée à partir de la PPD en poudre (Fluka Aldrich ®) dont la pureté est à 99,9%, analysée dans les mêmes conditions (figures n°2, 3 et 4). Le taux de PPD retrouvé dans l'échantillon de LLG est de 156 ng/L.

Le traitement, en l'absence d'antidote, est purement symptomatique [6,9] : intubation trachéale, ventilation artificielle, réhydratation et alcalinisation dans le but de prévenir l'installation d'une insuffisance rénale favorisée par la myoglobine, l'acidose et l'hypovolémie. Cette insuffisance rénale prend l'aspect d'une nécrose tubulai-

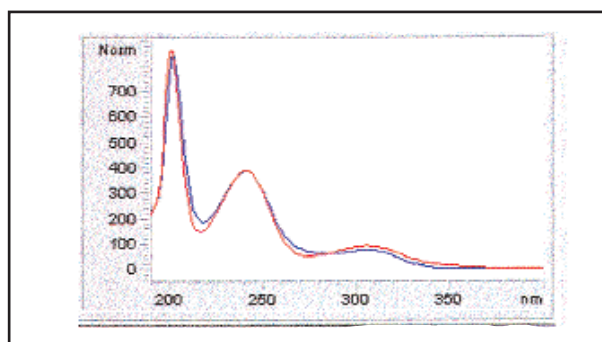


Figure n°2 : Spectres UV obtenus par l'analyse du LLG du patient (tracé bleu) et d'une solution témoin de PPD (tracé rouge).

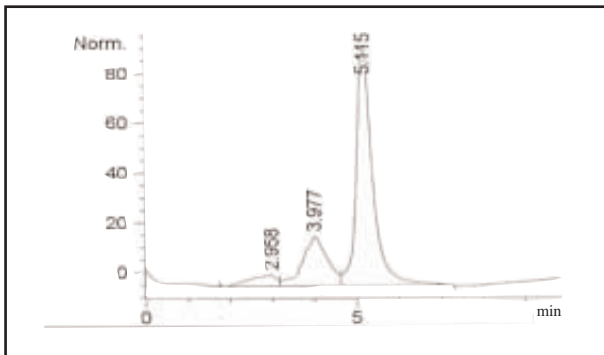


Figure n°3 : Chromatogramme obtenu par analyse d'une Solution pure de PPD par CLHP/Barrettes de diodes.

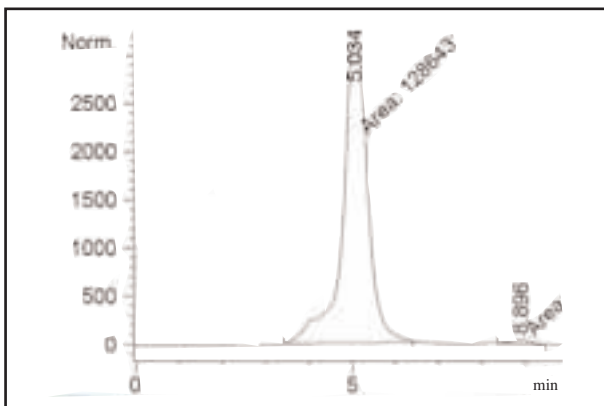


Figure n°4 : Chromatogramme obtenu par analyse du LLG du patient par CLHP/Barrettes de diodes.

re aiguë nécessitant le recours à l'hémodialyse [10]. L'aponévrotomie de décharge est indiquée chaque fois qu'il existe des signes de compression vasculaire ou nerveuse, possibles à partir du deuxième jour d'évolution de la rhabdomyolyse.

Le pronostic vital peut être engagé initialement par la survenue d'une hyperkaliémie par rhabdomyolyse sévère [2], d'une myocardite toxique ou d'une nécrose myocardique associée à une mortalité très lourde de 22 à 33% selon les séries [1, 6, 9].

Conclusion

L'intoxication par la PPD est en passe de constituer un véritable problème de santé publique puis qu'elle est responsable d'une mortalité importante surtout chez la femme jeune. Elle réalise une affection grave dominée par la détres-

se respiratoire à l'origine de la plupart des décès primaires. Il est temps de faire face à ce danger potentiel par l'information des médias et l'interdiction de la vente et de la commercialisation anarchique du produit.

Références

- 1- Ababou A., Ababou k., Mosadik A, Lazreq C, Sbihi A. Rhabdomyolyse du myocarde après intoxication par la paraphénylène diamine. Annales Francaises d'Anesthésie et de Réanimation 2000 ; 19 : 105-7
- 2- Eddarkaoui J. Aspects toxico-analytiques, cliniques et médico-légaux de l'intoxication aiguë mortelle par la PPD. Thèse n°16, université Mohamed V, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Rabat 2004
- 3- Lahbabi MS, Nejari M, Benomar S. Intoxication accidentelle d'un nourrisson à la PPD. Arch. Péd. 1998; 5 : 1168-1172
- 4- Adritti J., David J., Chiglione C., Jouglard J. Takaout, teinture capillaire naturelle ? Bulletin de Médecine Légale Toxicologie, 1980 : 153-155
- 5- Khatouf M., Housni B., Ifkharen B., Harandou M., Kanjaa N. Intoxication aiguë à la PPD. Journal Maghrébin d'anesthésie-réanimation et de Médecin d'Urgence 2004 ; 46 : 138-139.
- 6- Fatihi E., Laraki M., Zaid D., Benaguida M. Toxicité systémique de la PPD. A propos de 13 observations Réanimation et Urgences 1995; 4 : 371-373.
- 7- Band FJ., Galliot M., Cantineau JP., Muszinky J., Bolo A., Benahmed T. Rhabdomyolyse au cours d'une intoxication aiguë par la PPD. Journal de Toxicologie Médicale 1984; 3 : 279-283
- 8- Bourquia A., Jabrane AJ., Ramdani B., Zaid D. Toxicité systémique de la PPD. La presse Médicale 1988 ; 35: 1798-1800
- 9- Kerkeb O., Zeggwagh AA., Abouqal R., Madani N., Zekraoui A. Myocardite toxique secondaire à l'intoxication aiguë par la PPD. Annales Francaises d'Anesthésie et de Réanimation 1998 ; 17 : 1059
- 10- El Ansary EH., Ahmed M., Clague H.W. Systemic toxicity of PPD. Laucet 1983 ; 1 : 1341
- 11- Zeggwagh AA., Abouqal R., Madani R., Zerkaoui A.,

Contrôle de qualité interne en biologie clinique

O. MENIF,
N. KAABACHI

Laboratoire de biochimie,
CHU la Rabta Tunis.

Résumé : Les laboratoires d'analyses médicales produisent des résultats utiles pour le diagnostic, le suivi et la surveillance du traitement et la prévention des maladies ; pour ce faire, le laboratoire doit disposer d'un système qui assure la qualité de ses prestations, c'est le système d'assurance qualité. Le Contrôle de Qualité Interne ne permet la maîtrise que de la phase analytique. Il est néanmoins indispensable pour permettre de déceler les anomalies et les erreurs de mesures à fin de pouvoir y remédier immédiatement. Le principe du contrôle de qualité interne consiste à confronter pour chaque analyte la valeur observée d'un ou plusieurs spécimens de contrôle à la valeur cible et à des limites acceptables déterminées par les sociétés savantes. Le spécimen de contrôle est introduit après calibration et au cours des différentes séries d'analyses et à intervalle défini. L'exploitation statistique des données de contrôle de qualité est illustrée par des représentations graphiques ou cartes de Levey-Jennings. L'interprétation du contrôle de qualité est immédiate pour la validation technique quotidienne, elle est à moyen et à long terme pour l'étude de la reproductibilité et de la performance de la méthode. Toute erreur identifiée implique une action corrective. Toute action corrective doit être notifiée et décrite. Les résultats doivent être archivés pour une période minimale d'un an selon la réglementation en vigueur.

Mots clés : Qualité - erreur- action corrective- carte de contrôle- analyse.

Introduction

La qualité en biologie clinique a toujours constitué une préoccupation majeure pour le biologiste dont le souci permanent est de garantir la fiabilité de ses résultats.

Le contrôle de qualité est un des points clé dans l'organisation d'un laboratoire. Associé à d'autres mesures, il permet au biologiste de s'assurer de la bonne exécution des analyses qui lui sont confiées. Le contrôle de qualité permet également une amélioration des techniques analytiques non seulement du laboratoire qui s'y soumet, mais également de l'ensemble de la profession «biologie médicale». Parmi les étapes du processus analytique englobant les phases pré analytique, analytique et post analytique, le Contrôle de Qualité Interne (CQI) ne permet la maîtrise que de la phase analytique. L'assurance de la qualité de l'ensemble du processus incluant le CQI, exige quant à elle la mise en place d'un système de management de la qualité qui est actuelle-

ment une obligation légale conformément à la loi N° 2002-54 du 11 juin 2002 (1) et son texte d'application «le Guide de Bonnes Pratiques de Laboratoires : GBPL» paru en mai 2004 (2).

Définitions

Le CQI est l'ensemble des moyens mis en œuvre par le biologiste pour :

- détecter et corriger les erreurs pouvant entacher les résultats des examens de laboratoire

- fournir des informations concernant la qualité de la phase analytique et l'incertitude affectant un résultat.

Le CQI est indispensable pour permettre de déceler les anomalies et les erreurs de mesures pour y remédier immédiatement. Il est organisé par le biologiste qualifié chargé de l'assurance qualité. Il comporte toutes les mesures destinées à vérifier les différentes phases de l'activité permettant l'obtention des résultats, et notam-

ment l'analyse de spécimens de contrôle effectués dans les mêmes conditions que celles appliquées aux échantillons des patients. C'est un contrôle intra laboratoire et prospectif (3).

Objectifs du contrôle de qualité interne

Le CQI permet au personnel et à la direction du laboratoire d'analyses médicales de juger si le processus analytique est sous contrôle et si les résultats du laboratoire peuvent être utilisés à des fins diagnostiques et thérapeutiques. Le CQI est indispensable pour suivre la qualité des résultats du laboratoire. Il permet de valider le calibrage et de contrôler la reproductibilité (précision) des techniques qu'elles soient manuelles ou automatisées. Il permet d'effectuer des actions correctives au niveau technique (4).

En effet, toute analyse doit être régulièrement calibrée. Cette calibration ne peut être validée qu'après exécution d'un CQI. Les échantillons des patients ne peuvent être analysés qu'après cette validation technique. D'autre part, les spécimens de contrôle sont analysés au cours des différentes séries à intervalle défini (nombres d'échantillons) par le biologiste pour vérifier la reproductibilité de la technique.

D'un point de vue pratique, la mise en œuvre d'un CQI vise à :

- valider les résultats en temps réel
- détecter les erreurs et les corriger immédiatement
- prévenir les erreurs par le suivi et l'analyse des résultats du CQI.

Les différents types d'erreurs

Le CQI permet d'identifier trois types d'erreurs analytiques : erreur aléatoire, erreur systématique et erreur grossière.

L'erreur aléatoire

Les erreurs aléatoires appelées également erreurs d'imprécision ou erreurs fortuites (figure 1), résultent de la somme des erreurs accumulées tout au long du processus d'analyse. Elles conduisent à des résultats abaissés ou augmentés d'une valeur de même signe ou de même grandeur par rapport à la valeur cible et dispersés

de part et d'autre de celle-ci sans affecter tous les spécimens à analyser. Cette dispersion peut être acceptable ou non acceptable ; les critères d'acceptabilité sont fonction de l'écart type (3). Ces erreurs sont dues à l'opérateur (qualité du travail, du pipetage, habileté technique...) et / ou aux petits matériels et équipements utilisés (micropipettes, spectrophotomètres...). Elles sont minimisées par l'introduction de l'automatisation (uniformisation des gestes et des prises d'essais, lectures automatisées...)

L'erreur systématique

Les erreurs systématiques, appelées également erreurs d'exactitude ou de justesse conduisent à des résultats anormalement abaissés ou augmentés affectant tous les spécimens (figure 2) d'une valeur du même ordre de grandeur (3). Elles sont liées à la qualité des réactifs (instabilité, dégradation...), des étalons (surdosés, sous-dosés ou altérés). Cette erreur peut être ignorée si le biologiste se contente d'une observation ponctuelle des valeurs des contrôles. Elles sont devenues plus fréquentes avec l'automatisation.

L'erreur grossière

Les erreurs grossières sont des erreurs graves dues à l'inattention et à la négligence du manipulateur. Elles donnent des résultats aberrants. Elles peuvent être dues à une confusion touchant les réactifs, la prise d'essai, la longueur d'onde...

Le spécimen de contrôle

Le matériau de contrôle est un spécimen qui doit être utilisé uniquement dans un but de contrôle et non pour la calibration (3).

Les spécimens de contrôle doivent avoir une composition similaire ou identique à la matrice de l'échantillon du patient. Il existe 2 grandes catégories de spécimens de contrôle : ceux d'origine animale (bovine en général) et ceux d'origine humaine. Les spécimens d'origine animale sont beaucoup moins chers que ceux d'origine humaine. D'autre part, les spécimens d'origine animale ont un "comportement" différent des sérums d'origine humaine pour les enzymes, hormones, protéines, lipides, etc... Les spécimens de contrôle sont le plus souvent commer-

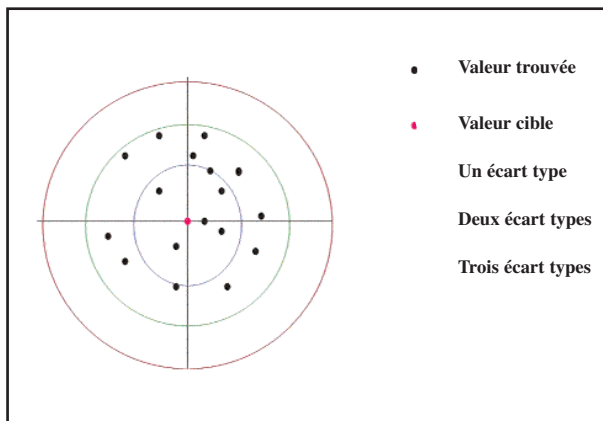


Figure 1 : Représentation schématique des erreurs aléatoires

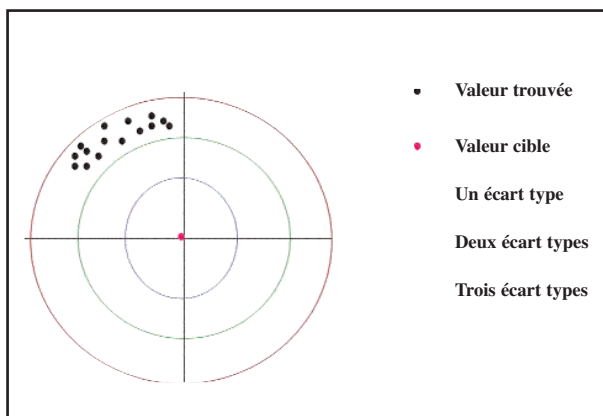


Figure 2 : Représentation schématique de l'erreur systématique

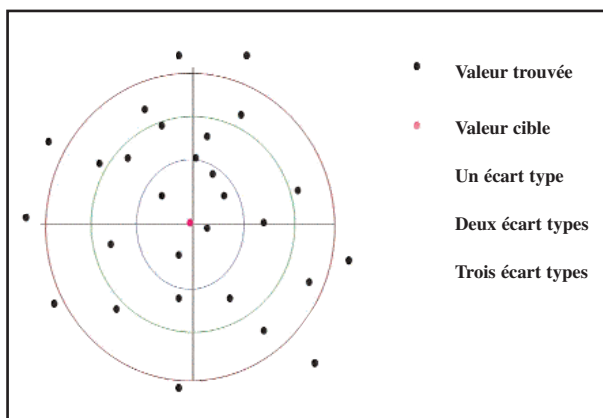


Figure 3 : Représentation schématique de l'erreur grossière

cialisés. Des mélanges de spécimens répartis en aliquotes et conservés à -20°C ou à -80°C peuvent être utilisés, mais ils sont déconseillés pour des raisons de biosécurité.

Il existe un large choix de spécimen de contrôle dans le commerce. Le choix d'un spécimen liquide est préférable à un spécimen lyophilisé car son utilisation ne nécessite pas une préparation préalable. En effet, le biologiste doit apporter le plus grand soin à la reconstitution des spécimens de contrôle. Il importe par ailleurs, de disposer de pipettes contrôlées, d'eau désionisée de qualité suffisante, et d'instructions pour spécifier le temps d'agitation et de reconstitution du spécimen de contrôle. Les spécimens de contrôle peuvent être titrés ou non.

Dans le premier cas, le fabricant fournit généralement les valeurs attendues pour diverses méthodes et instruments (moyennes et intervalles). Les valeurs sont fournies à titre indicatif et ne peuvent éventuellement être utilisées que jusqu'au moment où le laboratoire aura déterminé ses propres limites. Dans la mesure du possible, celles-ci seront déterminées avant l'utilisation en routine de spécimen de contrôle (3). En effet, les valeurs limites indiquées pour les différents analytes des spécimens de contrôle fournies par les fabricants ont des écarts beaucoup plus importants que ceux recommandés par les sociétés scientifiques.

Pour la plupart des analytes, l'utilisation de deux spécimens de contrôle à deux niveaux de concentration est recommandée. Ces niveaux de concentration doivent être choisis dans des limites critiques du point de vue de la prise de décision médicale, tout en tenant compte également des caractéristiques analytiques de la technique, telles que les limites de linéarité inférieure et supérieure. Il est recommandé de disposer d'un même lot de spécimen de contrôle pour une période d'une année.

Pour les techniques automatisées, il est préférable d'utiliser des spécimens de contrôle de marques différentes de celles des réactifs de l'analyseur.

Les spécimens de contrôle doivent être traités comme les échantillons des patients et non isolément. Les spécimens de contrôle sont introduits après le calibrage (procédure de contrôle du calibrage) et au cours du passage

pratique quotidienne

des différentes séries d'échantillons à un intervalle défini par l'utilisateur (procédure de contrôle de la reproductibilité).

Elaboration d'une procédure de contrôle de qualité interne

La mise en place d'un CQI doit être précédée par une formation du personnel de laboratoire sur le concept et le vocabulaire de la qualité, une évaluation de la situation actuelle, une gestion des réactifs et des étalons et une maintenance préventive des équipements bien fonctionnelle.

Une procédure opératoire écrite pour chaque spécimen de contrôle utilisé dans le laboratoire doit être disponible au niveau du poste de travail. Chaque procédure doit définir le responsable et les différents intervenants pour le traitement du contrôle et l'exécution des actions correctives (3).

Chaque étape du traitement du contrôle doit être notifiée. Les critères de choix des spécimens de contrôle, la gestion du stock et les modalités d'approvisionnement et de conservation avant utilisation doivent être enregistrés. La procédure doit indiquer le nom du contrôle, sa référence, son numéro de lot, son origine, sa nature. Elle doit préciser les conditions de sa préparation, de sa conservation éventuelle, les paramètres contrôlés, les valeurs cibles et les limites acceptables pour chaque constituant.

Les procédures opératoires doivent préciser la fréquence de passage des échantillons de contrôle. Elles doivent également comporter les instructions concernant les mesures à prendre en cas d'anomalies constatées ainsi que les actions correctives (3).

Toutes les fiches (prospectus) du fabricant jointes aux différents contrôles avec leur date d'utilisation ainsi que les résultats du CQI sont archivés pour une période minimale d'un an selon la réglementation en vigueur (1). L'annexe 1 comporte un exemple de procédure opératoire de gestion de CQI (5).

Mise en place du contrôle de qualité interne

Même si les spécimens de contrôle commerciaux utili-

sés pour le CQI sont titrés, pour chaque lot de contrôle et pour chaque niveau, la valeur cible et la précision de chaque paramètre seront déterminées après analyse au sein du laboratoire. Il faut procéder à un minimum de 20 mesures pendant une période de 2 semaines. Des périodes plus longues sont généralement conseillées parce qu'elles incluent plus d'opérateurs, plus de facteurs de variations (maintenance, changement de lots de réactifs, de pipettes,...) et qu'elles reflètent mieux la variation à long terme. En pratique, les valeurs de la moyenne (m) et de l'écart-type (S) sont calculées mensuellement pour évaluer la précision des techniques utilisées.

Rappel sur le calcul des paramètres statistiques (6) :

- Moyenne (m) : La moyenne calculée à partir d'un spécimen de contrôle est une estimation de la valeur centrale de la distribution des résultats. Elle correspond à la somme des valeurs obtenues du spécimen de contrôle divisée par le nombre de passages (n) généralement égale à 30.

$$\frac{\sum x_i}{n}$$

- Ecart-type (S) ou déviation standard est un paramètre statistique permettant de décrire la dispersion d'une série de mesures au tour de la moyenne. C'est la racine carrée de la variance.

L'écart-type est un reflet de l'erreur aléatoire. Il traduit

$$s = \sqrt{\frac{\sum (m - x_i)^2}{n - 1}}$$

donc la précision de la technique.

- Coefficient de variation (CV) : c'est l'écart type exprimé

$$C.V. = \frac{S}{M} \times 100$$

$$C.E. = \frac{|X_0 - m|}{X_0} \times 100$$

en pourcentage de la moyenne.

- Coefficient d'Exactitude ou d'inexactitude (CE) : c'est l'écart entre la valeur (X0) «vraie», fournie par le fabricant (pour les spécimens titrés) et la valeur moyen-

ne (m) trouvée ; il exprime le degré d'inexactitude par rapport à la valeur vraie

Etablissement de la carte de contrôle ou graphique de Levey et Jennings

Le laboratoire utilisera les valeurs de la moyenne (m) et de l'écart type (S) pour calculer les seuils critiques de limites d'alerte ($m \pm 2S$) et de limites de rejet ($m \pm 3S$) au delà desquelles la série est refusée et une action corrective est apportée (figure 4).

Le choix de ces intervalles de confiance est lié à la rareté des faux rejets et la détection assez rapide d'un biais. En effet, une valeur hors de l'intervalle $[m \pm 3S]$ a une faible probabilité (0,3%) d'être due à une erreur aléatoire (contre 5% pour 2 écarts types) et fait donc suspecter une erreur systématique touchant toute la série (figure 5) (7).

Il existe 3 critères d'efficacité objectifs pour une méthode de contrôle de qualité (8) :

- la détection rapide des erreurs
- la rareté des faux rejets
- le coût acceptable

Ainsi, pour chaque analyte, une carte de contrôle de type Levey-Jennings à deux niveaux de concentrations sera établie et sur laquelle seront quotidiennement reportées les valeurs des contrôles correspondants. Le report des nouveaux résultats peut se faire manuellement tandis

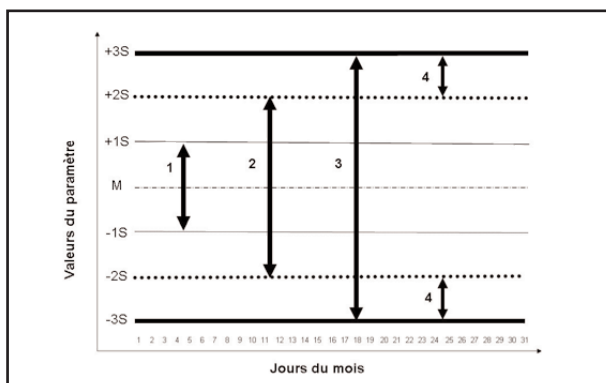


Figure 4 : Etablissement de la carte de contrôle et les limites d'alerte et de rejet

- 1 : zone idéale ; 2 : zone de confiance ;
- 3 : zone de contrôle ; 4 : zone d'alarme
- 2S et + 2S : - 2 et + 2 écart types : limites d'alerte
- 3S et + 3S : - 3 et + 3 écart types : limites de rejet

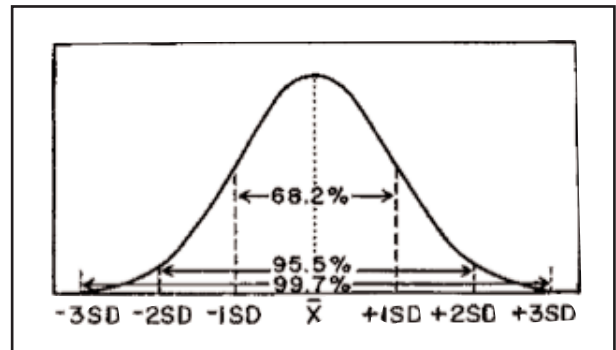


Figure 5 : Distribution des valeurs répétées d'un paramètre

que pour certains analyseurs le traitement est informatisé. Le grand nombre d'analyses, la fréquence parfois élevée de passage des contrôles, les nouvelles règles d'archivage et de traçabilité, rendent la gestion du contrôle de qualité très complexe. Pour que cette tâche indispensable soit effectuée correctement, des outils informatiques sont actuellement disponibles. En effet, le logiciel de certains automates permet une représentation graphique des résultats du CQI. Beaucoup d'automates proposent l'utilisation de règles statistiques (dites de WESTGARD, du nom du mathématicien qui les a établies). Pour cela, sont pris en compte les résultats des contrôles successifs. Certains appareils peuvent passer automatiquement des contrôles, avec des fréquences prédéterminés. Ces outils informatiques sont d'un grand apport dans la gestion du contrôle de qualité pour le biologiste.

La carte de contrôle comporte en abscisse l'identification du jour et en ordonnée les valeurs trouvées du paramètre contrôlé. La moyenne, la zone idéale ($m \pm 1S$), les limites d'alerte ($m \pm 2S$), et de rejet ($m \pm 3S$) doivent être tracées. La carte du CQI doit également comporter au minimum les informations suivantes :

- La désignation de l'analyte y compris l'unité de mesure
- Le système ou la méthode d'analyse
- Le mois de l'année
- Le matériel de contrôle : désignation (fabricant) et numéro de lot
- La valeur moyenne (valeur cible), les limites d'alerte et de rejet.

La figure 6 représente un exemple de carte de contrôle

de qualité interne de la glycémie

Interprétation du contrôle de qualité interne

L'application au laboratoire de biologie de procédure de contrôle sous forme de graphique fut proposée dès 1950 par Levey et Jennings (9). L'approche traditionnelle du contrôle de qualité reposait sur l'application stricte de la règle des 2 écarts type avec redosage immédiat du paramètre si le résultat se trouvait en dehors de ces limites. Mais ces modalités se sont révélées mal adaptées car elles entraînaient parfois le rejet de séries qui auraient pu être déclarées valides. Par ailleurs dans certains cas, elles se sont révélées insuffisantes pour déceler des variations importantes au plan clinique (10,11). L'efficacité de la procédure de contrôle de qualité a été améliorée. Plusieurs approches sont proposées pour le biologiste en vue d'améliorer les performances du contrôle de qualité. Actuellement, dans la pratique courante, un schéma simplifié d'interprétation, à partir de 2 niveaux de concentration de contrôle, est souvent utilisé par les biologistes.

L'interprétation est immédiate pour la validation technique quotidienne, elle est à moyen et à long terme pour l'étude de la reproductibilité et de la performance de la méthode (3).

Interprétation immédiate

Avant la série :

Après le calibrage s'il a lieu, et avant d'effectuer les dosages des spécimens patients, il est impératif de vérifier que toutes les valeurs des spécimens de contrôle sont comprises dans l'intervalle $m \pm 2S$ et régulièrement dispersées de part et d'autre de la valeur cible.

Cette dispersion est acceptable tant qu'elle reste dans l'intervalle $m \pm 2S$. Elle est inacceptable si elle est égale ou supérieure à $m \pm 3S$. Si une ou plusieurs valeurs se situent en dehors de cet intervalle, il faut entreprendre une action corrective.

Au cours de la série :

Si les valeurs des spécimens de contrôle obtenues pour chaque analyte sont comprises dans l'intervalle $m \pm 2S$,

et régulièrement réparties autour de la valeur cible (moyenne), la série des résultats des patients est validée. Si les valeurs obtenues pour un analyte de l'un ou des deux spécimens de contrôle s'écartent de $m \pm 3S$ de la valeur cible, la série est rejetée. Une action corrective doit être apportée.

Si les valeurs sont comprises entre $+2S$ et $+3S$ ou $-2S$ et $-3S$ autour de la moyenne (zone alarme) : il faut chercher la cause de cet écart et apporter les actions correctives avant d'atteindre les limites de rejets ($> 3S$).

Interprétation à moyen et long terme

Le suivi des résultats cumulés effectué chaque semaine ou chaque mois dans le laboratoire permet de contrôler l'imprécision et de corriger à moyen et long terme certaines dérives avant que celles-ci n'entraînent des erreurs significatives. Une répartition homogène de part et d'autre de la moyenne représente la courbe idéale avec une bonne distribution dans la zone de confiance (figure 6). Alors qu'une courbe désarticulée en dents de scie signale la présence d'erreurs aléatoires importantes donnant une mauvaise précision avec un grand risque d'avoir des valeurs «hors contrôle». Si plusieurs valeurs sont situées du même côté de la cible (moyenne), il s'agit d'un biais correspondant à une dérive ou un décalage selon les cas nécessitant une action corrective. La figure 7 présente un exemple de carte de contrôle interne de la glycémie présentant des erreurs aléatoire, grossière et une dérive ascendante.

Actions correctives

Toute erreur identifiée implique une action corrective. Toute action corrective doit être notifiée et décrite.

Les actions correctives des erreurs aléatoires

Elles sont dues à la qualité du spécimen de contrôle ou à l'analyseur. Il faut donc vérifier l'identification, le numéro de lot, la date de péremption, les conditions de stockage et de stabilité du spécimen de contrôle. Sur l'analyseur, il est également indispensable de vérifier le système de prélèvement, le processus de mélange du milieu réactionnel, la propreté des cuves réactionnelles, le système de mesure (photomètre, lampe, trajet optique) et la stabilité de la température. Une maintenance rigoureuse permet de minimiser la plupart des

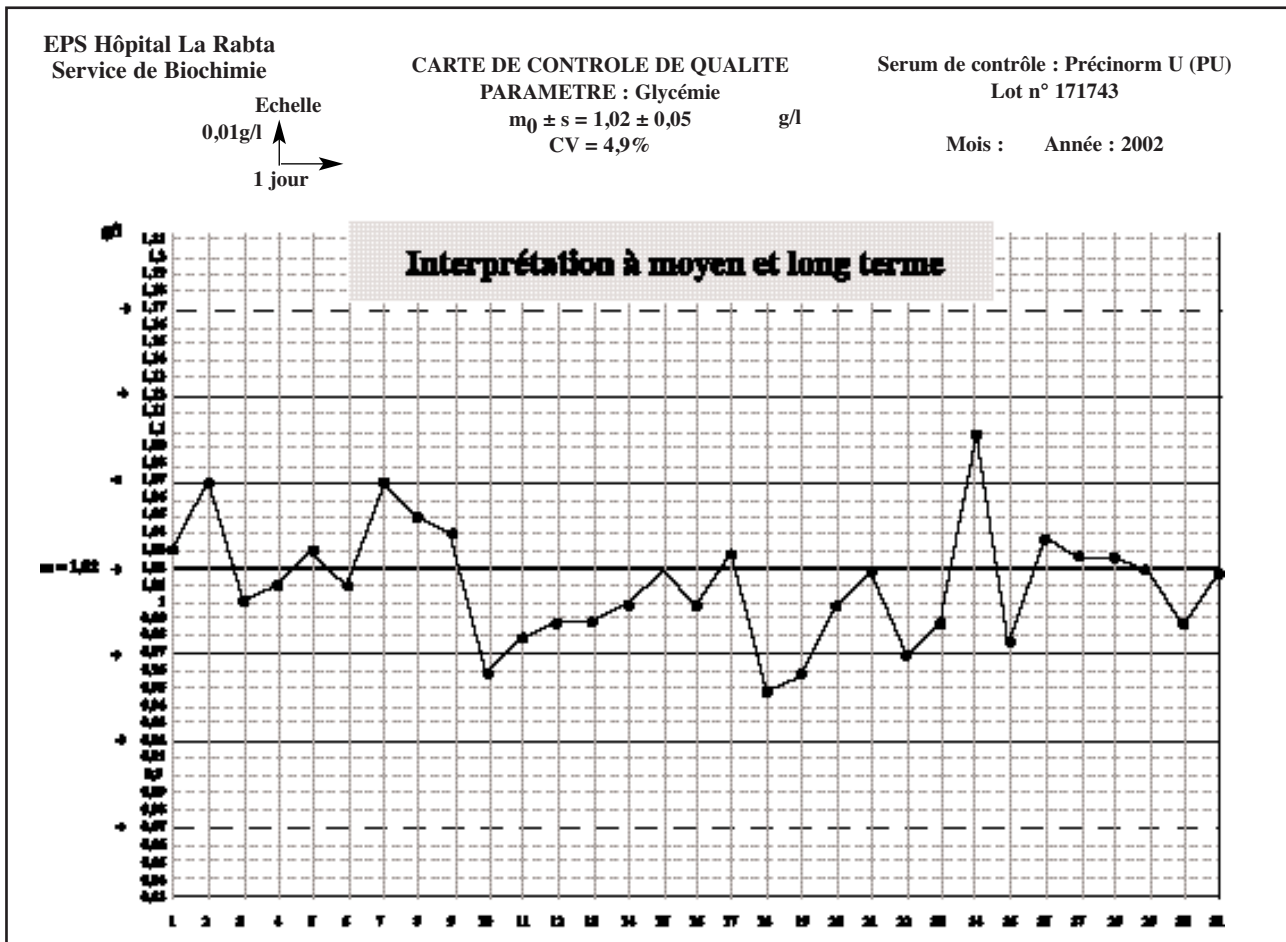


Figure 6 : Exemple de carte de contrôle interne de la glycémie

m : moyenne, S : écart type, CV : coefficient de variation

La carte de contrôle comporte en abscisse les jours du mois et en ordonnées les valeurs trouvées

Une répartition homogène de part et d'autre de la moyenne représente la courbe idéale avec une bonne distribution dans la zone de confiance

erreurs liées à l'analyseur.

Les actions correctives des erreurs systématiques ou d'exactitude

Elles sont soit constantes ou proportionnelles

Les erreurs systématiques constantes sont identifiées par le calcul du biais de 2 spécimens de contrôle à deux niveaux de concentration. Ce biais, établi par la différence entre la valeur observée et la valeur cible, est de même signe et de même ordre de grandeur pour les deux spécimens (tableau I) (3).

Dans ce cas, l'erreur concerne le réactif et les conditions

opératoires de la réaction. Il faut donc vérifier l'aspect, la date de péremption, les conditions de préparation, de stockage, de stabilité du réactif et les conditions opératoires.

Les erreurs systématiques proportionnelles sont identifiées par le calcul du rapport des valeurs observées sur les valeurs cibles de deux spécimens de deux niveaux de concentration. Dans ce cas les 2 spécimens de contrôle présentent un rapport de même ordre de grandeur (tableau II).

L'erreur systématique proportionnelle est principalement due au calibrage. Il faut vérifier le calibrateur (étalon), son identification, son numéro de lot, sa date de péremption, les

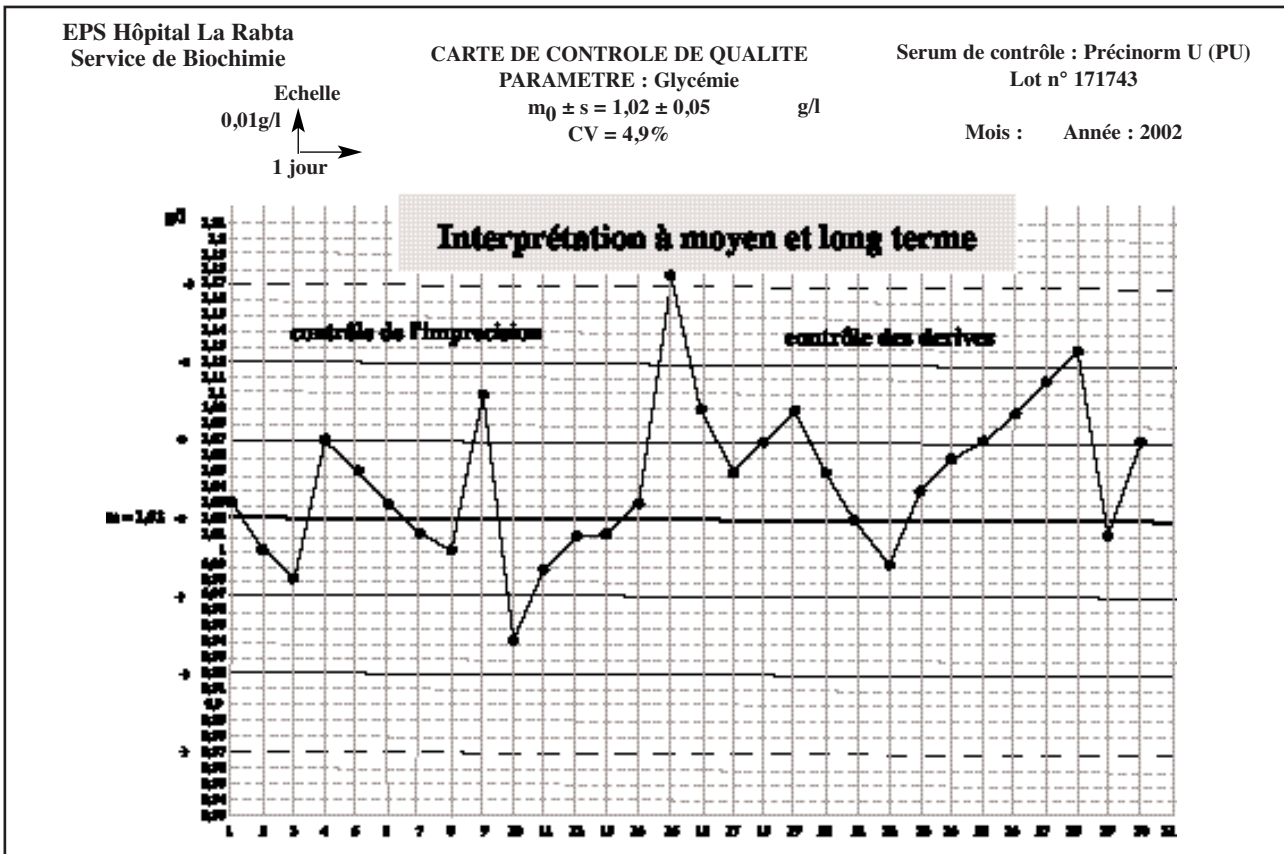


Figure 7 : Exemple d'interprétation à moyen et long terme d'une carte de contrôle de la glycémie

m : moyenne, S : écart type, CV : coefficient de variation

La carte de contrôle comporte en abscisse les jours du mois et en ordonnées les valeurs trouvées

De J1 à J14 : erreurs aléatoires. Imprécision acceptable avec dispersion les valeurs de façon aléatoire au tour de la moyenne.

J15 : erreur grossière

J22 à J28 : présence d'une dérive ascendante

conditions de préparation, de stockage, de stabilité et la correspondance de la valeur du calibrateur avec celle du numéro de lot. Pour les mesures cinétiques, il faut vérifier la valeur du facteur. Pour les mesures électrochimiques, il faut vérifier la pente de la réaction.

Les actions correctives des erreurs grossières

Elles peuvent concerner le paramétrage de la technique sur l'analyseur, le réactif, la calibration ou le spécimen de contrôle. Dans ce dernier cas, il peut s'agir d'une erreur d'identification, de positionnement ou de reconstitution du spécimen de contrôle.

Critères d'acceptabilité

Le contrôle de qualité ne peut être efficace que s'il y a une formulation préalable de la qualité requise. Cette dernière correspond aux critères d'acceptabilité déterminés par les sociétés savantes. Ces critères sont destinés aux biologistes dans leur pratique de validation des performances des techniques utilisés et aux organismes compétents qui effectuent des expertises lors de l'évaluation ou de la validation de nouveaux réactifs, techniques ou systèmes analytiques. Les normes d'acceptabilité varient en fonction de l'analyse considérée c'est-à-dire des performances analytiques, de l'intervalle des valeurs de référence, des variations biologiques intra individuelles et interindividuelles, du

Tableau I : Exemple d'erreurs d'exactitude systématique constante

	Valeurs Observées	Valeurs Cibles	Biais	Rapport
Contrôle A	1,25	1,00	+ 0,25	1,25
Contrôle B	3,25	3,00	+ 0,25	1,05

Tableau II : Exemple d'erreurs d'exactitude systématique proportionnelle

	Valeurs Observées	Valeurs Cibles	Biais	Rapport
Contrôle A	1,25	1,00	+ 0,25	1,25
Contrôle B	3,75	3,00	+ 0,75	1,25

niveau de concentration et de l'état d'art (performances analytiques obtenues, à un moment donné, dans 20 à 50% des laboratoires les plus performants et résultats des enquêtes de contrôle de qualité intra et/ou inter-laboratoires) (12).

Ces limites d'acceptabilité telles que rapportées pour les principaux paramètres utilisés dans les laboratoires d'analyses médicales par A.Vassault et al (12) correspondent à l'évaluation externe de la qualité. Pour le CQI, et en absence de normes établies, les tolérances maximales pour chaque analyte devraient correspondre à des limites plus faibles (de la moitié au tiers) que les limites rapportées dans le cadre de l'évaluation externe de la qualité. Cette démarche s'explique par le fait que les facteurs de variabilité intra laboratoire (équipement, personnel, réactif, environnement...) sont beaucoup plus faibles que ceux en interlaboratoire.

Conclusion

Le contrôle de qualité est utilisé de façon quotidienne dans nos laboratoires, mais seul le traçage des cartes permet d'identifier les erreurs et de suivre la reproductibilité des résultats.

Ces dernières années, et encore très récemment ont été publiés des textes de loi qui codifient de façon rigoureuse cette pratique. Le but du législateur est d'améliorer la sécurité du patient en lui faisant bénéficier de résultats biologiques fiables. Le contrôle de qualité interne renseigne

essentiellement sur la reproductibilité et la précision des résultats. Il doit être complété par un contrôle de qualité externe qui renseigne sur l'exactitude des résultats.

Annexe 1

Procédure opératoire générale selon A. Vassault et al (5)
Gestion des contrôles de qualité - PO3Q

Contrôle de qualité interne : PO3OI

A) Références des spécimens de contrôle

- 1- Poste de travail concerné
- 2- Nature du spécimen
 - origine du produit, état (lyophilisé, ou liquide)
 - conditionnement (flacon, ampoule)
- 3- nom du spécimen et nombre de niveaux de contrôle (1, 2 ou 3)
- 4- nom et adresse du fournisseur
- 5- date de réception inscrite sur le bon de livraison et sur l'emballage
- 6- lieu de stockage et date de péremption

B) Mode d'emploi

- 1- spécimens prêts à l'emploi ou prétraitement nécessaire
- 2- existence d'une fiche technique dans le coffret (oui -non)
- 3- sinon ; décrire la technique de reconstitution et indiquer :
 - le délai d'attente avant utilisation
 - les conditions de conservation après reconstitution
 - date de péremption

C) Mode d'utilisation :

Il doit être conforme aux protocoles spécifiques mis en place dans le laboratoire, et en relation avec la procédure opératoire de l'appareillage et/ou de l'analyse concernés

Le mode d'utilisation doit donc notamment décrire :

- 1- le positionnement dans l'appareil selon qu'il s'agit d'un emplacement préétabli ou non
- 2- la fréquence et les moments de passage au cours de la journée
- 3- le nombre et les niveaux de contrôle concernés
- 4- la fréquence de renouvellement des spécimens de contrôle (risque de concentration par évaporation, risque de contamination inter échantillon)

Le mode d'utilisation doit également faire figurer :

- 5- la date de mise en œuvre et le numéro du lot concerné
- 6- les valeurs cibles et les zones de tolérance
- 5- le support sur lequel sont transcrits les résultats (informatique ou papier, liste des résultats ou graphiques, etc...) et l'archivage.

D) Exploitation des résultats

1) Exploitations graphiques

a) compilation graphique chronologique par niveau :

Pour débiter ce type d'exploitation, chaque jour les valeurs observées sont portées sur un diagramme de Levey - Jenning, caractérisé par un trait horizontal définissant la valeur cible et une zone de tolérance définie par les intervalles ± 2 et ± 3 écart types autour de cette valeur.

Lorsque 30 données sont disponibles, les calculs de la moyenne et de la dispersion autour de cette moyenne et de la dispersion autour de cette moyenne (ou écart type) permettant au laboratoire le suivi de sa propre reproductibilité.

b) compilation graphique simultanée (à deux niveaux)

La construction de deux diagrammes orthonormés définissant la moyenne ± 2 écart types pour chaque niveau de contrôle permet d'établir un graphique de Youden dont chaque point est la résultante de coordonnées (niveau «bas» et niveau «élevé»).

2) Mesures correctives en cas de dysfonctionnement

Dès lors qu'une ou plusieurs valeurs sont écartées de la zone de fluctuation tolérée, une procédure doit indiquer clairement la succession des actions à entreprendre :

- a) vérification de la valeur observée par une nouvelle mesure du spécimen
- b) vérification de la procédure de préparation (volume de reconstitution, température, délai d'attente) et la procédure de conservation
- c) invalidation de la série des mesures effectuées en aval et /ou en amont
- d) recherche des causes analytiques pouvant expliquer cette déviance en étudiant notamment :
 - les valeurs observées pour les autres niveaux du même contrôle
 - la validité de la courbe de calibrage éventuelle
 - la valeur de la moyenne obtenue avec les spécimens de patients (moyenne dite «des patients normaux»). Elle sera judicieusement comparée à celle observée dans la

série immédiatement précédente ou dans une série choisie de façon aléatoire, les valeurs des niveaux de contrôle étant à ce moment satisfaisantes.

- La qualité du système analytique en se reportant aux procédures spécifiques de bon fonctionnement, de bonne utilisation et de maintenance de l'appareillage et de l'analyse concernés

E) Procédure alternative

Cette procédure définit l'attitude à suivre lorsque du fait des conclusions tirées de l'exploitation du contrôle de qualité interne, une technique d'analyse et / ou un appareillage sont écartés pour un temps du fonctionnement du laboratoire.

Cette procédure décrit notamment :

- le devenir des spécimens biologiques en attente
- la mise en oeuvre d'une autre technique - la transmission à un confrère
- les conséquences

Il faut de plus :

- Etablir la liste des personnes à prévenir
- Mettre en œuvre le traitement nécessaire des prélèvements
- Déclencher la mise en route d'un second appareillage
- Effectuer un appel au service après vente pour l'analyseur concerné si nécessaire
- Consigner sur les documents correspondants :
 - La défaillance du contrôle de qualité
 - Les attitudes correctives décidées
 - L'incident ou la panne survenus sur l'appareil concerné et les gestes correctifs entrepris (maintenance immédiate, changement d'une pièce, intervention SAV par téléphone ou sur place)
 - Remettre en état de fonctionnement l'appareil concerné conformément à sa procédure opératoire

Références

1. Loi N°2002-54 du 11 juin 2002. Journal Officiel de la République Tunisienne du 14 juin 2002 ; 49 : 1404-8.
2. Guide de bonne pratique de laboratoire (GBPL). 2^{ème} édition Mai 2004. Ministre de la santé publique.
3. Le Moel G, Piton C, Pontezière C, Claisse C, laureau C, marie B, Francoual J, Laromiguière M, Jacob N. Assurance

qualité : contrôle de qualité interne et évaluation externe de la qualité. *Ann Biol Clin (Paris)* 2000 ; 58 : 103-10.

4. Guide de bonne exécution des analyses de biologies médicales. Arrêté du 26 novembre 1999. *Journal Officiel de la République Française* du 14 décembre 1994 ; 17 : 193-201.

5. Vassault A, Dumont G, Labbé D. Contrôle de qualité inter-laboratoire. Cahier de Formation spécial GBEA Biochimie 1994. Procédure générale. Formation continue conventionnelle. Ed Bioforma Paris, II, 35-39.

6. Commission validation des techniques. Dictionnaire des termes à l'usage de la validation de techniques. Documents A *Ann Bio Clin* 1986; 44 : 679-85.

7. Guenet D, Moineau MP, Morin J F, Codet J P. Exploitation

des contrôles de qualité les cartes de Levey - Jennings sont elles suffisantes en pratique quotidienne ? *Immuno-analyse et biologie spécialisée* 2006 ; 21 : 172-180.

8. Marquis P, Masseyeff R. Evaluer une méthode de contrôle de qualité interne : application au contrôle multidimensionnel. *Ann Biol Clin* 2002 ; 60: 607-16.

9. Levey S, Jennings ER. The use of control charts in the clinical laboratory. *Am J Clin Pathol* 1950 ; 20 : 1059-6.

10. Westgard JO, Barry PL, Hunt MR. A multi-rule Shewhart chart for quality control in clinical chemistry. *Clin Chem* 1981; 27 : 493-501.

11. Dechert J, Case KE. Multivariate approach to quality control in clinical chemistry. *Clin Chem* 1998 ; 44 : 1959-63.

12. Vassault A, Grafmeyer D, de Graeve J, Cohen R,

informations scientifiques et nouvelles professionnelles

Agenda des manifestations scientifiques

12th Congress of the European Hematology Association (EHA)

Vienne Austria
June 07/10 2007
www.eurocongress.com/eha.2007

17th Regional European Congress of the International society of blood transfusion

Madrid, Spain
23-27 Juin 2007
www.isbt-web.org/congress

XXIst congress of International society of thrombosis and haemostasis

Genève
July 6-12, 2007
www.isth2007.com

3rd European Congress of Virology.

September 1-5. Numberg. Germany.
www.escv.org.

ICAAC 2007 - 47th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC).

September 17-20 Chicago, IL, USA,
www.icaac.org

ISTH 2007 : 21st congress of the International society of blood transfusion (ANZSBT)

Birbane, Australia
14-17 october 2007
www.isbt-web.org/congress/orther.asp

11th Asia-Pacific Congress of Clinical Biochemistry.

October 14-19,
Beijing, China
www.chinamed.com.cn

JIB 2007, Journées Internationales de Biologie

November 7-9, 2007 - Paris,
www.eventseye.com/fairs

18th regional congress of the International society of blood transfusion (ISBT)

Hanoi, Vietman
November 10-13, 2007
www.isbt-web.org/hanoi

MEDICA 2007,

November 14-17.
Duesseldorf, Germany
www.messe-duesseldorf.de.

Genetics and mechanisms of suceptibility to infectious disease

Institut Pasteur de Paris
November, 21-24, 2007
www.pasteur.fr

IFCC-WORLDLAB

September 28th-October 2nd, 2008
Fortaleza, Brazil
Ceara's Convention Center
www.fortaleza2008.org

XII AFCB Congress

ArabMedLab 2009
ath Conference of clinical Laboratory
Syndicat des biologistes du Liban
May 2009 Beirut
www.sdbliban.org

IFCC-WORLDLAB Berlin 2011

21st International Congress of Clinical Chemistry
And Laboratory Medicine
19th IFCC-FESCC European Congress of Clinical
Chemistry and Laboratory Medicine
May 15th -20th, 2011
Berlin Germany
www.berlin2011.org

activités de la société

De retour des JIB, où la Société Tunisienne de Biologie Clinique s'est distinguée par sa participation active à la réussite du stand d'exposition Ibn Khaldoun et à la session scientifique auprès du syndicat des biologistes de libre pratique. Elle a repris depuis, une intense activité en organisant une dizaine de séminaires ateliers et non des moindres sur des thèmes très variés :

- l'hémostase pédiatrique qui a drainé plus de cent biologistes.
 - les Journées de biologie de Sfax dont le thème cette année a porté sur les candidoses nosocomiales, les dermatophytes et dermatophytes.
 - la clôture du premier cycle de sensibilisation des biologistes au management de la qualité dans un laboratoire de santé qui s'est déroulée dans une ambiance conviviale et studieuse.
 - un deuxième cycle comportant trois séminaires sera organisé conjointement avec Tunisie Bioformation à partir du mois de Juin 2007.
 - un séminaire consacré au diagnostic des infections sexuellement transmissibles qui a suscité beaucoup d'intérêt et rassemblé une assistance nombreuse.
 - la continuation du cycle de formation des techniciens en qualilogie par l'organisation de trois séminaires.
 - un cycle de conférences ouvert à tous les biologistes dans le cadre de la mise en place d'un réseau national de surveillance des résistances bactériennes organisé sous l'égide du Ministère de la santé publique.
- La STBC a participé à l'élaboration de la charte d'engagement pour la création de la Fédération Internationale Francophone de Biologie Clinique et de Médecine de laboratoire, au cours des JIB et à l'occasion du congrès national marocain de biologie. Cette charte sera conclue au cours des prochaines JNBC

à Hammamet.

Depuis juillet 2004, la STBC est membre du Comité National de Coordination pour le Fonds Mondial de Lutte contre le SIDA, la Tuberculose et le Paludisme (CCM)

Le CCM, instance de coordination nationale pour le suivi du programme financé par le Fonds Mondial, est présidé par Monsieur le Ministre de la Santé Publique Dr. Mohamed Ridha KECHRID. Le CCM a organisé plusieurs rencontres avec les différents participants de la lutte contre le SIDA, afin non seulement d'expliquer le rôle de cette instance, mais également permettre à tous les participants de trouver un cadre de concertation et d'orientation. Ainsi la STBC participera dans ce programme par la formation continue des biologistes, pharmaciens, médecins de première ligne sur la prise en charge de ces affections et par l'élaboration d'un guide de formation au profit des biologistes et des techniciens de laboratoire.

La STBC fait donc appel à votre candidature, que vous soyez du domaine public ou du domaine privé, pour participer activement à ce programme qui devra commen-

Le bureau de la Société Tunisienne de Biologie Clinique et la rédaction de la Revue Tunisienne de Biologie Clinique s'associent à toute la famille des biologistes pour adresser leurs condoléances aux parents, proches et alliés de notre confrère et cher regretté Pr. Faouzi Ben Ahmed.

Pr. Faouzi Ben Ahmed a été membre du bureau de la STBC durant 2 mandats. Il a contribué en tant que Secrétaire général à l'évolution de la STBC, en y mettant son dynamisme, sa gentillesse et sa compétence au profit de ses collègues, confrères et amis. Que Dieu lui accorde son infinie miséricorde.

STBC : www.stbc.org.tn Consulter notre site pour :

- plus d'information sur la convention signée entre la CNAM et le Syndicat des Biologistes de libre pratique.
- Tout contact, suggestions, participations aux activités scientifiques.
- La consultation de la Revue RTBC en ligne

activités de la société

STBC

*Société Tunisienne
de Biologie Clinique*

Programme Scientifique 2007

Date	Lieu	Activité - Thème(s)	Coordinateur(s)
17 - 18 Janvier	Hammamet	1 ^{er} cycle Sensibilisation des biologistes au management de la qualité dans un laboratoire de santé 3 ^{ème} séminaire	STBC/TBF
13 - 14 février	Tunis	X ^{ème} Cycle de formation des techniciens en qualilogie Gestion des locaux et ressources humaines 3 ^{ème} séminaire	STBC/ATUTEB/ULB
13 - 15 Mars 16 - 17 Avril	Hammamet	X ^{ème} Cycle de formation des techniciens en qualilogie. 4 ^{ème} séminaire - 5 ^{ème} séminaire	STBC/ATUTEB/ULB
12 Janvier	Sfax	Journée de Biologie Clinique de Sfax Les candidoses nosocomiales, les dermatophytes et les dermatophyties	Wadii Khrouf
08 - 10 Mars	Tunis	Cycles de conférence "Les méthodes de détection et de surveillance des résistances bactériennes"	Mohamed Ali Memmi Saida Ben Redjeb Soufia Besbes
09 Avril	Tunis	Séminaire atelier Les Infections sexuellement transmissibles	Farouk Barguellil Abdelhalim Trabelsi Soufia Besbes
7 - 8 - 9 - Mai	Tunis	Deuxième Cours International de Biologie Moléculaire	STBC/IFCC/AFCB/CNTS
10 Mai	Hammamet	Séminaire pédagogique La communication orale	Mohamed Fadhel Najjar
10 - 12 Mai	Hammamet	XXI ^{èmes} Journées Nationales de Biologie Clinique avec la participation de AFCB/IFCC/SFBC	Le bureau de la STBC
Juin	Tunis	2 ^{ème} cycle Séminaire : Sensibilisation des biologistes au management de la qualité dans un laboratoire de santé	STBC/TBF
16 Novembre	Tunis	Séminaire : Toxoplasmose Rubéole	Kalthoum Kallel Afef Masmoudi
Novembre	Tunis	Séminaire - atelier : Automatisation en Hématologie et validation analytique des résultats	Mondher Kortas Neila Ben Romdhane

Secrétaire Générale de la STBC
Pr. Soufia Besbes
Institut Mohamed Kassab D'orthopédie
Ksar Said, 2010
Tel: 71 606 978 - Fax: 71 606 912
Email : soufia.besbes@rns.tn

Coordinateur du Comité Scientifique
Pr. Ali Bouslama
Laboratoire de Biochimie
Hôpital Sahloul - Sousse 4051
Tél : 73 369 289 - Fax : 73 367 451
Email : ali.bouslama@rns.tn

www.stbc.org.tn

In memoriam

Décès du professeur Faouzi Ben Ahmed

N. SAID

Centre Militaire de Transfusion Sanguine

Le professeur Faouzi Ben Ahmed, médecin biologiste, ancien colonel et Directeur du Centre Militaire de Transfusion Sanguine est décédé dans sa cinquante quatrième année.

Après des études médicales à la faculté de médecine de Tunis, il s'engage dans l'armée nationale. Pendant son séjour parisien, il poursuit sa formation de spécialité en biologie médicale dans les universités Paris VI et VII. Parallèlement, il a acquis une formation pratique dans les hôpitaux militaires du Val de Grâce et de Percy.

Spécialiste en biologie médicale des hôpitaux militaires français, il a été affecté au Centre Militaire de Transfusion Sanguine en 1986 qu'il dirigea de novembre 1988 à juin 2004 avant de partir à la retraite anticipée. Son passage au centre a été marqué par :

- le doublement du chiffre de collecte de sang (10772 en 1988 à 23354 en 1996)
- la diversification des produits sanguins labiles grâce à la généralisation des poches en plastiques
- et surtout la production de l'albumine à 20% (première dans le monde arabe et en Afrique, exception faite de l'Afrique du Sud)

Assistant Hospitalo-Universitaire en 1987, Maître de Conférence Agrégé en 1993 et Professeur en 2002, il a

participé à la formation en hématologie de nombreuses promotions à la Faculté de Médecine de Tunis, à l'Ecole Supérieure des Sciences et Techniques de la Santé de Tunis et dans les Ecoles Militaires.

Auteur de nombreux travaux scientifiques, il a énormément participé au rayonnement de la transfusion en Tunisie.

Membre de plusieurs commissions nationales dans le domaine de la transfusion sanguine, membre actif de la Société Tunisienne de Biologie Clinique et membre de plusieurs autres sociétés savantes, il a mis à profit son expérience pour inculquer les bonnes pratiques de la transfusion sanguine.

Détenteur de la médaille d'or de donneur de sang en 1999 (27 dons), il a continué à militer pour la promotion du don de sang même après sa mise à la retraite.

Malgré ses multiples activités, il était devenu familier des réunions touchant à la prévention des maladies sexuellement transmises, où il a fait partager à tous ses connaissances et son expérience dans le domaine du SIDA.

Nous garderons tous en mémoire ses exposés brillants, son sens didactique, sa simplicité lors des réunions, séminaires et congrès.

instructions aux auteurs

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 de la Biologie Clinique de toutes disciplines et tout mode d'exercice. La revue publie des articles originaux, des revues générales, des notes de pratique quotidienne ou de formation continue, des revues de presse ou de livres et des lettres à la rédaction. Toutes les publications se font en français, en anglais ou en arabe et doivent être obligatoirement accompagnées d'un résumé en anglais (Les lettres à la rédaction, les revues de presse ou de livres ainsi que les notes, ne requièrent pas de résumé).

Les manuscrits soumis à la revue ne doivent pas avoir fait l'objet de publication antérieure (en dehors des thèses, mémoires, ou abstracts). Les manuscrits sont soumis à aux moins deux lecteurs anonymes sélectionnés par le comité de rédaction.

Si des corrections sont demandées aux auteurs, la version corrigée doit être soumise de nouveau à la rédaction dans un délai ne dépassant pas 2 mois. Elle doit être accompagnée d'une version sur disquette informatique (logiciel word).

Une fois accepté, le manuscrit ne peut être publié dans une autre revue sans l'autorisation préalable de la RTBC.

Recommandations générales

● Soumission des manuscrits

Les manuscrits sont adressés en 3 exemplaires (y compris les illustrations) au rédacteur en chef, à l'adresse suivante :

Revue Tunisienne de Biologie Clinique
Professeur Abderraouf MEBAZAA
Laboratoire de Biochimie
Hôpital La Rabta 1007-Tunis.

Les manuscrits doivent être accompagnés d'une lettre précisant la rubrique à laquelle les auteurs désirent voir apparaître leur manuscrit et les engageant quant à la non soumission à une autre revue. Cette lettre doit porter la signature de tous les auteurs.

● Préparation des manuscrits

Les manuscrits doivent être rédigés en interligne 1,5, taille des caractères : 12, sur du papier format A4, en recto uniquement.

Laisser une marge de 2,5 cm des 4 côtés de la page.

Mettre les références, les tableaux et les figures sur des pages séparées du texte. Toutes les pages doivent être numérotées, en commençant par la page de titre. Les différentes sections du manuscrit doivent répondre aux recommandations suivantes :

page de titre comportant

- le titre de la publication, reflétant son contenu (2 lignes maximum)
- les noms et prénoms des auteurs, ainsi que les adresses professionnelles des équipes (lorsqu'il existe plus d'un laboratoire d'origine, indiquer en "exposant" après chaque nom, le numéro du laboratoire correspondant).
- une adresse de correspondance avec N° de téléphone, fax et E-mail.

résumé et mots clés

- Le résumé consiste en un paragraphe unique comportant moins de 200 mots.

- Aucune abréviation ni référence ne doivent apparaître dans le résumé.

- Le résumé est suivi d'une série d'au maximum six mots clés.

remerciements

Les remerciements éventuels sont placés à la fin du texte, avec un caractère différent.

références (1)

Les références sont numérotées par ordre d'apparition dans le texte et présentées selon le modèle suivant :

● **Pour les articles de revues** : Noms des auteurs suivis des initiales des prénoms. Titre de l'article dans la langue d'origine. Nom abrégé de la revue année ; volume : première et dernière page de l'article.

Exemple : Boscato LM, Stuart MC. Incidence specificity of interference in two-site immunoassays. Clin Chem 1986 ; 32 : 1491-5.

(1) : *International Committee of Medical Journal Editors. Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. N Engl J Med* 1991 ; 324 : 424-8.

● **Pour les articles de livres** : Noms des auteurs de l'article suivis des initiales des prénoms. Titre de l'article dans la langue d'origine. In : noms et initiales des auteurs de l'ouvrage. Titre du livre. Ville, éditeur, année de publication : première et dernière page de l'article.

Exemple : Kohn RR. Aging and age related disease : Normal processes. In : Johnson HA. Relation Between Normal Aging and Disease. New York, Raven Press, 1985: 1-44.

● **Pour un livre** : Noms des auteurs suivis des initiales des prénoms. Titre du livre. ville, éditeur, année de l'édition : nombre de pages ou les pages exactes à consulter (la 1^{ère} et la dernière).

Exemple : Forbes GB. Human body composition. New York : Springer Verlag, 1987 : 27.

tableaux et figures

Ils sont présentés sur des pages séparées du texte et numérotés respectivement en chiffres romains et arabes.

Ils sont accompagnés de titres et de légendes suffisamment clairs et explicites.

abréviations

Tout sigle ou abréviation nécessaire doit être explicité à sa première apparition dans le texte.

Rubriques

● Editorial

Habituellement écrit à la demande du Comité de Rédaction, sur une question «d'actualité», par un auteur qui fait autorité sur le sujet. Il doit être court, de l'ordre de cinq pages dactylographiées et comporter moins de 10 références bibliographiques.

● Revues générales

Elles ont pour objet de présenter une mise au point des connaissances et de souligner les acquisitions récentes.

Les revues générales sont normalement publiées sur invitation du comité de rédaction. Toutefois, des suggestions au rédacteur en chef peuvent être avancées.

Les recommandations de la rédaction sont identiques à celles concernant les articles originaux.

● Articles originaux

Ils ont pour objet de présenter un travail original se rapportant à la résolution de problèmes en pathologie humaine et où la biologie tient une place prépondérante.

Le nombre de pages est limité à 15, illustrations, références et résumé compris.

Ils doivent comporter les sections suivantes dans l'ordre : titre, résumé, mots clés, introduction, matériel et méthodes, résultats, discussion, remerciements (éventuellement), références, tableaux et figures.

● Lettres à la rédaction

Cette rubrique permet aux lecteurs de réagir à propos d'un article paru dans la RTBC, d'une nouveauté ou d'un événement en biologie clinique. La lettre doit être concise (moins de 750 mots, références comprises). Une figure ou un tableau peut y être inclus.

● Notes de pratique quotidienne

Il s'agit d'un espace réservé à des articles courts consacrés à l'exercice quotidien de la biologie (évaluation technique et réactovigilance, cas cliniques, valeur sémiologique des analyses, organisation et gestion des laboratoires...). Ces articles doivent comporter moins de 1500 mots, 2 tableaux ou figures au maximum, et moins de 15 références.