

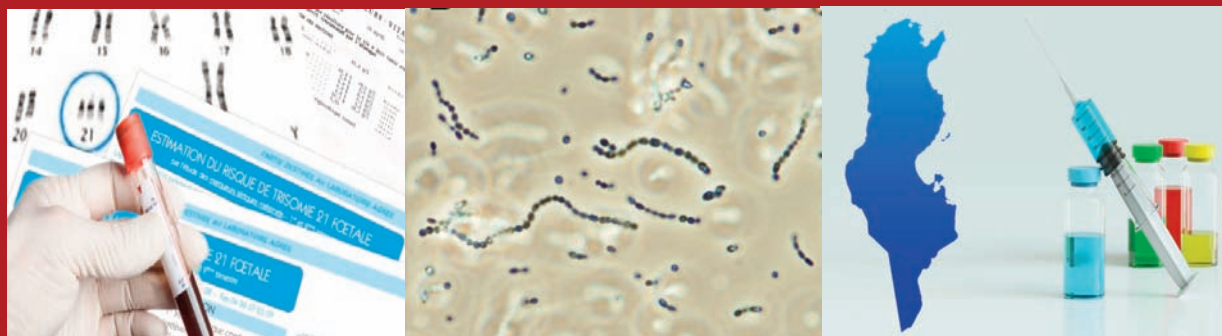
Revue Tunisienne de BIOLOGIE CLINIQUE

المجلة التونسية للبيولوجيا السريرية

2021 - Volume 28, n°1

Organe de la Société Tunisienne de Biologie Clinique

ISSN : 2724-7201



Editorial

Les Vaccins anti Covid-19 face à la menace des 2 variants viraux

Professeur Amine Slim

Articles originaux

A case of necrotizing fasciitis caused by *Streptococcus canis* in a drug addict patient

Ghassen Drissi, Hajer Battikh, Meriem Zribi, Mohamed Khaled, Maher Barsaoui, Chedlia Fendri

Manifestations hématologiques du VIH

Malek Terras, Mohamed Yassine Kaabar, Mariem Cheikhrouhou, Sami Guermazi

Profil bactériologique et épidémiologique des infections du site opératoire en chirurgie maxillo-faciale

Lamia Tilouche, Refka Ben Dhia, Nesrine Kalboussi, Inès Hamila, Soumaya Ketata, Olfa Bouallegue, Chérifa Chaouch, Noureddine Boujaâfar, Habib Khochtali

Apport du FilmArray® dans le diagnostic d'un purpura fulminans à *Neisseria meningitidis*

Ouafa Kallala, Lamia Tilouche, Houda Ajmi, Safouane Kacem, Sameh Bougattas, Farah Azzouzi, Kacem Saoussen, Imene Fodha, Soumaya Ketata, Chérifa Chaouch, Noureddine Boujaâfar, Olfa Bouallegue, Saoussen Abroug, Abdelhalim Trabelsi

Recommandations de la commission de standardisation des marqueurs sériques maternels. Groupe de Travail «Standardisation du dépistage de la trisomie 21»

Ghaya Merdassi, Anis Ben Amor, Chakib Mazigh, Elyes Selim Ghedira, Hamdi Dhaouadi, Haythem Jeguirim, Nejib Barouni, Noomen Batita, Olfa Bahri, Salima Ferchichi, Wadie Khrouf, Taieb Messaoud

Bureau Exécutif de la STBC

Présidente :	<i>Pr. Manel Chaabane</i>
1^{er} Vice-président :	<i>Pr. Zied Aouni</i>
2^{ème} Vice-présidente :	<i>Pr. Youssr Galai</i>
Secrétaire générale :	<i>Pr. Hajer Battikh</i>
1^{er} Secrétaire générale adjointe :	<i>Pr. Yomna Ben Lamine</i>
2^{ème} Secrétaire générale adjointe :	<i>Mme Sana Hammami</i>
Trésorier :	<i>Dr. Khalil Ben Abdallah</i>
Trésorier adjoint :	<i>Dr. Aïcha Kallel</i>
Archiviste :	<i>Pr. Mouna Sassi</i>

Comité de rédaction

Rédacteur en chef
Pr. Farouk Barguellig

Attachés à la rédaction :
Pr. Emna Chaker
Pr. Zied Aouni
Pr. Amina Bibi
Pr. Salima Ferchichi
Pr. Youssr Galai
Pr. Asma Ghariani
Pr. Manel Chaabane
Pr. Ag. Mouna Sassi
Pr. Ag. Hajer Battikh

Editorial

Les Vaccins anti Covid-19 face à la menace des 2 variants viraux..... 2
Professeur Amine Slim

Articles originaux

A case of necrotizing fasciitis caused by *Streptococcus canis* in a drug addict patient..... 6
Ghassen Drissi, Hajer Battikh, Meriem Zribi, Mohamed Khaled, Maher Barsaoui, Chedlia Fendri

Manifestations hématologiques du VIH..... 10
Malek Terras, Mohamed Yassine Kaabar, Mariem Cheikhrouhou, Sami Guermazi

Profil bactériologique et épidémiologique des infections du site opératoire en chirurgie maxillo-faciale..... 16
Lamia Tilouche, Refka Ben Dhia, Nesrine Kalboussi, Inès Hamila, Soumaya Ketata, Olfa Bouallegue, Chérifa Chaouch, Noureddine Boujaâfar, Habib Khochtali

Apport du FilmArray® dans le diagnostic d'un purpura fulminans à *Neisseria meningitidis*..... 24
Ouafa Kallala, Lamia Tilouche, Houda Ajmi, Safouane Kacem, Sameh Bougattas, Farah Azzouzi, Kacem Saoussen, Imene Fodha, Soumaya Ketata, Chérifa Chaouch, Noureddine Boujaâfar, Olfa Bouallegue, Saoussen Abroug, Abdelhalim Trabelsi

Recommandations de la commission de standardisation des marqueurs sériques maternels. Groupe de Travail «Standardisation du dépistage de la trisomie 21»..... 30
Ghaya Merdassi, Anis Ben Amor, Chakib Mazigh, Elyes Selim Ghedira, Hamdi Dhaouadi, Haythem Jeguirim, Nejib Barouni, Noomen Batita, Olfa Bahri, Salima Ferchichi, Wadie Khrouf, Taieb Messaoud

Activités de la STBC..... 39
Professeur Manel Chaâbane

EDITORIAL

Les Vaccins anti Covid-19 face à la menace des variants viraux

Lors d'un précédent éditorial pour la Revue Tunisienne de Biologie Clinique, écrit en mai 2020, et malgré la situation rassurante dans notre pays, j'insistais fortement sur les précautions à prendre pour éviter une seconde vague épidémique meurtrière à l'automne 2020 (c'est ce qui s'est produit) et sur la capacité du virus SARS-Cov2 à muter pour mieux s'adapter à l'hôte grâce à des changements ponctuels affectant les épitopes de la protéine d'enveloppe S.

En effet, ces mutations ont entraîné l'apparition successive de plusieurs variants (environ tous les 2 mois) qui ont complètement changé la donne épidémiologique et par conséquent renforcé l'urgence de préparer des vaccins efficaces en peu de temps, vaccins qui ont été commercialisés début 2021.

Actuellement, on considère que 5 grands variants ont circulé ou circulent dans le monde, et se livrent à une compétition acharnée pour dominer le terrain virologique, à savoir dans l'ordre chronologique : le variant italien (1), puis le variant anglais (3), le variant brésilien, le variant sud-africain (qui sont des variants du virus anglais) et enfin le variant californien (6). Tous ces variants ont montré leur capacité de propagation plus rapide (2) mais jusqu'à maintenant peu d'influence sur la mortalité et la résistance aux vaccins proposés (4,5) sauf le variant sud africain (8).

Nous allons essayer de répondre autant que faire ce peut à ces importants bouleversements en attendant d'autres évolutions soit bénéfiques soit aggravantes pour cette pandémie en apportant aussi un éclairage sur la situation tunisienne.

1-Qu'est-ce qu'un variant ?

Le variant virologique est défini comme un mutant au niveau de sa structure (capside et/ou gènes de surface surtout) capable de mieux se propager et/ou de devenir plus ou moins résistant aux thérapeutiques et aux vaccins proposés. Les exemples types sont représentés par les virus à ARN moins stables que ceux à ADN et en particulier le VIH et la grippe contre lesquels nous disposons de médicaments et de vaccins. Ces mutations ont donc entraîné une résistance à la trithérapie pour le VIH et l'obligation de modifier le vaccin antigrippal sur une base annuelle pour limiter les effets de la grippe saisonnière. Ce variant fait donc toujours partie de la même famille et du même sous-type de virus car les mutations portent sur moins de 10% de sa structure totale.

2-Quelles sont les mutations qui affectent ces variants?

La première décrite est le variant S qui a sévi en Italie au printemps 2020 et qui a envahi le monde jusqu'à l'été.

SUITE EDITORIAL

A partir du mois d'Aout, d'autres variants ont été recensés sur la plateforme GISAID de l'OMS comme le variant Madrilène, Norvégien et enfin Anglais. Les mutations responsables de l'apparition des 5 principaux variants nommés plus haut sont les suivantes:

- variant italien: mutation D614G
- variant anglais ou B.1.1.7: mutation N501Y
- variant brésilien: mutation N501YV.1 associée à la mutation E484K
- variant sud africain: mutation N501YV.2 associée à la mutation K417N
- variant californien: mutation L452Y associée aux mutations du virus brésilien

Toutes ces mutations reflètent la capacité du virus à s'adapter rapidement à des populations et/ou des ethnies différentes (comme l'épidémie de Manaus au Brésil où après une première vague meurtrière au mois de mai 2020, suivie d'une accalmie dont les chercheurs ont estimé qu'elle était due à une immunité collective de 60%, l'apparition du variant brésilien a causé une deuxième vague épidémique catastrophique qui a obligé le gouvernement à faire un pont aérien quotidien avec Rio de Janeiro pour livrer des bonbonnes d'oxygène aux structures de santé en manque!). De même, l'étude de la réponse anticorps contre ces variants (4,5,7,8) a montré au fur et à mesure des recherches que cette réponse anticorps neutralisante était susceptible de moins protéger contre cet «échappement virologique».

3-Quelles conséquences pour le diagnostic virologique?

La première est qu'il a fallu modifier les techniques de RT-PCR en utilisant d'abord des PCR adaptées aux variants recherchés en combinaison avec la technique classique, puis d'utiliser de préférence des PCR multiplexes qui commencent à être commercialisées.

La deuxième est qu'il a fallu aussi mettre au point des techniques de séquençage «full genome» dans les pays qui pouvaient le faire, pour confirmer les PCR de détection et découvrir de nouveaux variants susceptibles d'aggraver la situation épidémiologique (9)

Troisièmement, les tests rapides (antigènes/anticorps et salivaires doivent être réévalués en fonction de ces variants car ils ne les détectent pas dans certains cas).

Enfin, cela a permis de détecter des réinfections (peu jusqu'à présent) à ce virus même chez des sujets guéris cliniquement et porteurs d'anticorps neutralisants mais moins efficaces.

SUITE EDITORIAL

4-Quelles conséquences sur les vaccins proposés et largement utilisés actuellement?

Après ces précisions nécessaires pour comprendre l'énorme enjeu économique, social et de prise en charge sanitaire de cette nouvelle réalité épidémiologique, la grande crainte était que ces variants rendent inefficaces les vaccins proposés. Les premières publications (5,7) ont été rassurantes pour les vaccins à ARNm concernant le variant anglais et brésilien par contre le sud africain semble moins efficace pour les vaccins à Adénovirus transformés (Astra Zeneca® en particulier, de plus devant 22 cas de thromboses observés après vaccination, le Danemark, la Norvège et l'Islande ont suspendu provisoirement son utilisation en attendant les résultats de l'enquête de pharmacovigilance). Les données manquent en ce qui concerne les vaccins inactivés qui entraînent une moins bonne réponse humorale et surtout cellulaire. Bref, c'est un grand chantier de recherche, de même que la durée de persistance des anticorps protecteurs chez un sujet convalescent qui a fait l'objet d'un article pré-print récent (10) qui estime cette protection *in vitro* à environ 80 jours!

L'OMS suit de près ces variations ainsi que le CDC d'Atlanta et donnent régulièrement des mises au point de la conduite à tenir en fonction de l'évolution de l'épidémie (11, 12,13).

Il est plus que probable dans l'avenir on s'orientera vers un vaccin saisonnier et/ou multivalent comme pour le virus grippal en fonction de l'apparition de nouveaux variants plus pathogènes

Je terminerais cet éditorial en décrivant brièvement la situation Tunisienne: le variant anglais a probablement été introduit dans notre pays fin décembre 2020, il a été détecté 2 mois après par l'institut Pasteur de Tunis et confirmé en «full genome» par le labo de référence du CHU Charles Nicolle, ce variant semble gagner en prépondérance épidémiologique d'après les rapports de l'Office National de Maladies Emergentes et ré-émergentes (ONME). La campagne vaccinale commencera avec le vaccin Russe Sputnik V à partir du 13 mars et s'amplifiera avec la réception d'autres vaccins.

Il sera donc utile de vérifier

1- L'état actuel de l'immunité collective avant vaccination (un échantillon de 10.000 personnes sera testé courant avril d'après une annonce du Ministère de la Santé) et surtout après vaccination en échantillonnant des sérums de sujets vaccinés.

2- De continuer régulièrement à rechercher des variants dans notre pays (surtout le sud africain qui risque de nous remonter par les équipes de football voyageant en Afrique et la frontière avec la Libye) et d'en apprécier l'impact épidémiologique et sanitaire.

Pr. Amine Slim

SUITE EDITORIAL

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Korber B, Fischer WM, Gnanakaran S, Yoon H, Theiler J, Abfalterer W et al. Tracking Changes in SARS-CoV-2 Spike: Evidence that D614G Increases Infectivity of the COVID-19 Virus. *Cell*. 2020 20; 182(4):812-827.
2. Hou YJ, Chiba S, Halfmann P, Ehre C, Kuroda M, Dinnon KH 3rd et al. SARS-CoV-2 D614G variant exhibits efficient replication ex vivo and transmission in vivo. *Science*. 2020; 370(6523):1464-1468.
3. Starr TN, Greaney AJ, Hilton SK, Ellis D, Crawford KHD, Dingens AS et al. Deep Mutational Scanning of SARS-CoV-2 Receptor Binding Domain Reveals Constraints on Folding and ACE2 Binding. *Cell*. 2020 ;182(5):1295-1310.
4. Xie X, Zou J, Fontes-Garfias CR, Xia H, Swanson KA, Cutler M et al. Neutralization of N501Y mutant SARS-CoV-2 by BNT162b2 vaccine-elicited sera. *bioRxiv* [Preprint]. 2021.01.07.425740. doi: 10.1101/2021.01.07.425740.
5. Wu K, Werner AP, Moliva JI, Koch M, Choi A, Stewart-Jones GBE et al. mRNA-1273 vaccine induces neutralizing antibodies against spike mutants from global SARS-CoV-2 variants. *bioRxiv* [Preprint]. 2021.01.25.427948. doi: 10.1101/2021.01.25.427948.
6. Zhang W, Davis BD, Chen SS, Sincuir Martinez JM, Plummer JT et al. Emergence of a Novel SARS-CoV-2 Variant in Southern California. *JAMA*. 2021;325(13):1324-1326.
7. Wang Z, Schmidt F, Weisblum Y, Muecksch F, Barnes CO, Finkin S et al. mRNA vaccine-elicited antibodies to SARS-CoV-2 and circulating variants. *Nature*. 2021; 592(7855):616-622.
8. Wibmer CK, Ayres F, Hermanus T, Madzivhandila M, Kgagudi P, Oosthuysen B et al. SARS-CoV-2 501Y.V2 escapes neutralization by South African COVID-19 donor plasma. *Nat Med*. 2021; 27(4):622-625.
9. World Health Organization. 2021. Genomic sequencing of SARS-CoV-2: a guide to implementation for maximum impact on public health . <https://www.who.int/publications/i/item/9789240018440>
10. Andreano E, Piccini G, Licastro D, Casalino L, Johnson NV, Paciello I et al. SARS-CoV-2 escape in vitro from a highly neutralizing COVID-19 convalescent plasma. *bioRxiv* [Preprint]. 2020.12.28. 424451. doi: 10.1101/2020.12.28.424451.
11. Christie A, Mbaeyi SA, Walensky RP. CDC Interim Recommendations for Fully Vaccinated People: An Important First Step. *JAMA*. 2021; 325(15):1501-1502.
12. World Health Organization. 2021. The effects of virus variants on COVID-19 vaccines. <https://www.who.int/news-room/feature-stories/detail/the-effects-of-virus-variants-on-covid-19-vaccines>
13. World Health Organization. 2021. Episode #28 - Evolution of the SARS-CoV-2 virus. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/media-resources/science-in-5/episode-28---evolution-of-the-sars-cov-2-virus>

ARTICLE ORIGINAL

A case of necrotizing fasciitis caused by *Streptococcus canis* in a drug addict patient

Ghassen Drissi¹
Hajer Battikh²
Meriem Zribi²
Mohamed Khaled¹
Maher Barsaoui¹
Chedlia Fendri²

1 Orthopaedics and Traumatology-
Rabta teaching hospital of Tunis
(Tunisia).

2 Microbiology Laboratory,
Rabta University Hospital of
Tunis (Tunisia)
Djebel Lakhthar Street, Rabta
Jebbari, 1007, Tunis, Tunisia

Abstract

Bêta-hemolytic group G streptococci are mainly classified into *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* and *Streptococcus canis*. It causes pyogenic infections in humans and animals, essentially dogs and cats. Several publications have associated group G *Streptococcus* with sepsis, skin and soft tissues infections in humans.

We report herein an unusual case of necrotizing fasciitis due to *Streptococcus canis* in a 40 years-old drug- user diabetes men suffering from chronic hepatitis C. The patient was admitted initially for the management of an abscess in the external section of the knee which dates back to 7 days with local inflammatory signs. He was operated. The cyto-bacteriological examination of the reduced pus identified *S. canis* sensitive to all antibiotics tested. The patient was first managed with amoxicillin and clavulanic acid (3g / day intra-venous). One week later the deterioration of his condition required another surgery in emergency with discovering of an extensive necrotizing fasciitis which required excision of necrotic tissue and the change of antibiotic. The evolution showed an improvement in the wound condition and a good biological assessment.

Key words : *Streptococcus canis*, drug addict, group G streptococci, necrotizing fasciitis, pyogenic

Résumé

Les streptocoques Bêta-hémolytiques du groupe G sont principalement classés en *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* et *Streptococcus canis*. Ils peuvent causer des infections pyogènes chez les humains ainsi que les animaux, essentiellement les chiens et les chats. Plusieurs cas de bactériémies, d'infections de la peau et des tissus mous ont été publiés. Nous rapportons ici un cas inhabituel de fasciite nécrosante à *Streptococcus canis* chez un toxicomane âgé de 40 ans, diabétique sous insuline et atteint d'hépatite C chronique. Il a été admis initialement pour le traitement d'un abcès dans la partie externe du genou qui remonte à 7 jours. Le patient a été opéré. L'examen cyto-bactériologique de pus ramené a identifié un *Streptococcus canis* sensible à tous les antibiotiques testés. Le patient a d'abord été traité avec de l'amoxicilline- l'acide clavulanique et gentamycine sans amélioration. La découverte d'une fasciite nécrosante a nécessité une reprise chirurgicale d'urgence avec l'excision du tissu nécrotique. L'association céfotaxime et Rifampicine a abouti à la cicatrisation de la plaie et à une bonne évolution biologique.

Mots-clés : *Streptococcus canis*, toxicomane, Streptocoques du groupe G, fasciite nécrosante, pyogène, céfotaxime- rifampicine

Introduction

Infectious diseases caused by bêta-hemolytic *streptococci* are in general focused on Lancefield group A (*Streptococcus pyogenes*) and B (*Streptococcus agalactiae*). Group G streptococci are occasionally isolated. Bêta-hemolytic group G streptococci are mainly classified into *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* and *Streptococcus canis* (*S. canis*) (1). Veterinarians have long known pathogenicity of *S. canis*. It causes pyogenic infections in animals, essentially dogs and cats (2). It causes respiratory, cutaneous, genital and urinary infections and has also been reported to induce bacteremia and udder infection (mastitis) (3,4,5). In 1996, its human involvement was established in a 77 year old man presenting bacteremia contracted cutaneously (6). Several cases of bacteremia, skin, and soft tissue infections have since been published (7,8,9) mostly in comorbid patients (10). Since then, molecular biology studies have confirmed *S.canis* implication in human pathology (11,12). The patient's history of contact with a dog is critical for the diagnosis of *S. canis* infection (13).

Case report

We report herein an unusual case of necrotizing fasciitis due to *Streptococcus canis*. There was no history or trace of bites. It concerned a 40 years-old man, a drug user suffering from chronic hepatitis C for 10 years with a medical history of tabagism and diabetes mellitus under insulin. He was admitted for the management of an abscess in the external section of the knee (injection site of buprenorphin) which dates back to 7 days with local inflammatory signs (Figure 1 and Figure 2).

Figure 1 : Abscess before surgery



Figure 2 : After draining abscess.



On examination, his temperature was 39°C. Laboratory results disclosed a leukocyte count of 19.280 /mm³ with 16.250 neutrophils/mm³, an hemoglobin level of 14,7 g/dl, a platelet count of 176 000/mm³. C-reactive protein was 318,3mg /l (normal range <5 mg/L). He had surgery the next day and the 3-cm open abscess had draining pus with nauseating odor and it was surrounded by a 2-cm rim of erythematous callused skin. The patient was first managed with amoxicillin and clavulanic acid (3g/day intra-venous). The pus was sent to the microbiology laboratory. Its culture was carried out on 10% agar of sheep blood, chocolate blood agar (Polyvitex[®]) incubated at 37 ° C in an atmosphere enriched with 10% of CO₂ and into an ordinary agar, enrichment broth. Twenty-four hours later, white and smooth colonies surrounded by a zone of beta-hemolysis grew, of which the Gram stain and the vitek system identified as: *S. canis* (99.9%) (Biomerieux, Marcy l'Étoile, France). Streptococcal serotyping was positive for group G (Pastorex[®], Biorad)

An antibiogram has been carried out and interpreted according to the recommendations of the EUCAST of the current year and relating to *Streptococcus spp.* The following antibiotics were tested: penicillin G, ampicillin, erythromycin, telithromycin, clindamycin, pristinamycin, rifampin, gentamicin, netilmicin, tobramycin, levofloxacin, trimethoprim and sulfamides, chloramphenicol, linezolid, teicoplanin and vancomycin. (14,15). The isolate was sensitive to all antibiotics tested. Therefore, the patient was managed with amoxicillin and clavulanic acid (3 g/day intra-venous) and gentamycin (300 mg/day intramuscular). Two peripheral blood cultures performed at admission became negative. The patient left the hospital the next day.

The evolution was noticed after one week by the extension of the abscess to the thigh with signs of sepsis. His blood pressure was 90/60 mmHg and his heart rate was 117 beats per minute. His temperature was at 38, 9°C. The deterioration of his condition required a surgery in

emergency with discovering of an extensive necrotizing fasciitis (Fig.3) which required excision of necrotic tissue and the change of antibiotic.

Fig 3 : Extensive necrotizing fasciitis before the second surgery

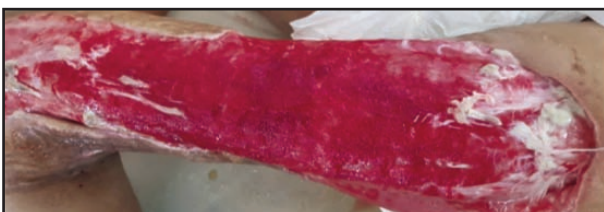


At the 30th day of hospitalization, the evolution showed an improvement in the wound condition (Fig.4 and Fig.5) and a very good biological assessment (white cells blood at 7280 elements/mm³ the C-reactive protein at 70 mg/l). The patient was treated for another two weeks with oral cefotaxim and rifampicin. The patient is scheduled for a thin skin graft.

Fig 4 : Extensive necrotizing fasciitis during the second surgery



Fig 5 : Improvement in the wound condition



Discussion

Streptococcus canis is mainly found in the commensal flora of animals (16). It is the most common streptococcal species involved in dog's infections (17) and causes respiratory, cutaneous, genital and urinary infections (18). In humans, infection was first reported in 1997 (19) and several cases of bacteremia, skin, and soft tissue infections have since been published (19, 21) mostly in comorbid patients (22). As in our case, local wounds or ulcers and contact with dogs were frequently reported and suspected to be the portal of entry. In one case report [20] and in a recent study (21) *S. canis* isolates recovered from humans and from house pets of the same geographic area were closely related using highly discriminatory typing methods, providing strong evidence for the zoonotic nature of *S. canis* infection (23).

This is the first case of necrotizing fasciitis caused by *S. canis* reported in Tunisia. *S. canis* is not a common cause of infection in humans in Tunisia. Human *S. canis* infections are rarely reported. In a US prospective survey in 2003 and 2004, the proportion of *S. canis* among group G streptococci isolated from human invasive infections was only 2.6 % (24). This study confirms that *S. canis* infections are rare and represent only 1% of all streptococcal infections (22). However, *S. canis* infections may have previously been underdiagnosed (22) due to the fact that, group G streptococci are not systematically identified to the species level. Moreover, *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* and *S. canis* both form beta-hemolytic large colonies (25) and biochemical identification of *S. canis* is difficult (26). *S. canis* often causes skin or soft tissue infections that sometimes have a severe course (22). Most *S. canis* infections are observed in people who have been bitten by a dog or in dog breeders. Since *S. canis* may be detected in the clinical samples of people who breed animals or who have a history of contact with animals such as dogs, clinical microbiologists should pay close attention to the patient's background. *S. canis* can be identified on the basis of its biochemical properties (1). Search for a history of exposure to domestic animals revealed that the patient lived in an unhealthy place with dogs and cats. Considering our patient's history, and data from the literature, we hypothesize that the source of the infection in our patient was a colonization of site of drug injection by dog's salivary fluid. The antibiotic treatment of these infections poses no major problems, even though the emergence of resistance to macrolides, penicillin G and gentamicin should be taken into consideration (28,29).

Conclusion

In conclusion, our case adds to the spectrum of *S. canis* related infections and highlights the ability of this

pathogen to induce necrotizing fasciitis with serious consequences. We believe that group G streptococci responsible for invasive diseases should be identified to species level using mass spectrometry in order to better

evaluate and survey the precise incidence of the zoonotic diseases related to *S. canis*. Prospective studies with biomolecular techniques are now required.

REFERENCES

- Ohtaki H, Ohkusu K, Ohta H, Miyazaki T, Yonetamari J, Usui T et al. A case of sepsis caused by *Streptococcus canis* in a dog owner: a first case report of sepsis without dog bite in Japan. *J Infect Chemother* (2013) 19:1206–1209.
- Tan RE, Yee WX, Cao DY, Tan PL, Koh TH. Zoonotic streptococcus canis infection in Singapore. *Singapore Med J*. 2016; 57(4):218. doi: 10.11622/smedj.2016077.
- Devriese LA, Hommez J, Klipper-Bälz R, Schleifer KH. *Streptococcus canis* sp. a species of group G streptococci from animals. *Int J Syst Bacteriol* 1986;36:422-425.
- DeWinter LM, Low DE, Prescott JF. Virulence of *Streptococcus canis* from canine streptococcal toxic shock syndrome and necrotizing fasciitis. *Vet Microbiol* 1999;70:95-110.
- Iglauer F, Kunstner I, Morstedt R, Farouq H, Wullenweber M, Damsch S. *Streptococcus canis* arthritis in a cat breeding colony. *J Exp Anim Sci* 1991;34:59-65.
- Bert F, Lambert-Zechovsky N. Septicemia caused by *Streptococcus canis* in human. *J Clin Microbiol* 1997;35:777-779.
- Lewthwaite P, Parsons HK, Bates CJ, McKendrick MW, Dockrell DH. Group G streptococcal bacteraemia: an opportunistic infection associated with immune senescence. *Scand J Infect Dis* 2002;34:83-87.
- Biberstein EL, Brown C, Smith T. Serogroups and bio types among beta-hemolytic streptococci of canine origin. *J Clin Microbiol* 1980;11:558-561.
- Clemetson LL, Ward AC. Bacterial flora of the vagina and uterus of healthy cats. *J Am Vet Med Assoc* 1990;196:902-906.
- Freny J, Bland S, Etienne J, Desmonceaux M, Boeufgras JM, Fleurette J. Description and evaluation of the semiautomated, 4-hour rapid ID 32 Strep method for identification of streptococci and members of related genera. *J Clin Microbiol* 1992;30:2657-2661.
- Whatmore AM, Engler KH, Gudmundsdottir G, Efstathiou A. Identification of isolates of *Streptococcus canis* infecting humans. *J Clin Microbiol* 2001;39:4196-4199.
- Takeda N, Kikuchi K, Asano R, Harada T, Totsuka K, Sumiyoshi T, et al. Recurrent septicemia caused by *Streptococcus canis* after a dog bite. *Scand J Infect Dis* 2001; 33:927-928.
- Lam MM, Clarridge JE III, Young EJ, Mizuki S. The other group G *Streptococcus*: increased detection of *Streptococcus canis* ulcer infections in dog owners. *J Clin Microbiol*. 2007;45:2327-2329.
- Statement of the AntibioGram Committee of the French Microbiological Society. *Pathol Biol* 1985;33:295-296
- Soussy CJ, Carret G, Cavallo JD, Chardon H, Chidiac C, Choutet P, et al. AntibioGram Committee of the French Microbiology Society. Report 2000-2001. *Pathol Biol* 2000;48: 832-871.
- Lysková P, Vydržalová M, Královcová D, Mazurová J. Prevalence and characteristics of *Streptococcus canis* strains isolated from dogs and cats. *Acta Vet Brno*. 2007;76:619-625.
- Lamm CG, Ferguson AC, Lehenbauer TW, Love BC. Streptococcal infection in dogs: a retrospective study of 393 cases. *Vet Pathol*. 2010;47:387-395.
- Kruger EF, Byrne BA, Pesavento P, Hurley KF, Lindsay LL, Sykes JE. Relationship between clinical manifestations and pulsed-field gel profiles of *Streptococcus canis* isolates from dogs and cats. *Vet Microbiol*. 2010;146:167-171.
- Bert F, Lambert-Zechovsky N. Septicemia caused by *Streptococcus canis* in a human. *J Clin Microbiol*. 1997;35:777-779.
- Takeda N, Kikuchi K, Asano R, Harada T, Totsuka K, Sumiyoshi T et al. Recurrent septicemia caused by *Streptococcus canis* after a dog bite. *Scand J Infect Dis*. 2001;33:927-928.
- Pinho MD, Matos SC, Pomba C, Lübke-Becker A, Wieler LH, Preziuso S et al. Multilocus sequence analysis of *Streptococcus canis* confirms the zoonotic origin of human infections and reveals genetic exchange with *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis*. *J Clin Microbiol*. 2013;51:1099-1109.
- Galpérine T, Cazorla C, Blanchard E, Boineau F, Ragnaud JM, Neau D. *Streptococcus canis* infections in humans: retrospective study of 54 patients. *J Infect*. 2007;55:23-26.
- Lacave G, Coutard A, Troché G, Augusto S, Pons S, Zuber B et al. Endocarditis caused by *Streptococcus canis*: an emerging zoonosis? *Infection* DOI10.1007/s15010-015-0809-3. Published online 24 June 2015.
- Broyles LN, Van Beneden C, Beall B, Facklam R, Shewmaker PL, Malpiedi et al. Population-based study of invasive disease due to beta-hemolytic G. Lacave et al. *Streptococci* of groups other than A and B. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2009;48:706-712.
- Facklam R. What happened to the streptococci: overview of taxonomic and nomenclature changes. *Clin Microbiol Rev*. 2002;15:613-630
- Lam MM, Clarridge JE, Young EJ, Mizuki S. The other group G *Streptococcus*: increased detection of *Streptococcus canis* ulcer infections in dog owners. *J Clin Microbiol*. 2007;45:2327-2329.
- Hassan AA, Akineden O, Usleber E. Identification of *Streptococcus canis* isolated from milk of dairy cows with subclinical mastitis. *J Clin Microbiol*. 2005;43:1234-1238.
- Faibis F, Fiacre A, Demachy MC. Emergence of high-level gentamicin resistance in group G streptococci. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2001;20:901-902.
- Woo PC, To AP, Tse H, Lau SK, Yuen KY. Clinical and molecular epidemiology of erythromycin-resistant beta-hemolytic Lancefield group G streptococci causing bacteremia. *J Clin Microbiol*. 2003;41:5188-5191.

Manifestations hématologiques du VIH

Hematological manifestations of HIV infection

Malek Terras¹

Mohamed Yassine Kaabar¹

Mariem Cheikhrouhou¹

Sami Guermazi¹

Laboratoire d'hématologie
de l'Hôpital Charles Nicolle

Introduction

L'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) s'accompagne de manifestations hématologiques fréquentes type cytopénies, anomalies de l'hémostase et hémopathies malignes. La physiopathologie de ces manifestations n'est pas encore complètement élucidée, mais leur caractère multifactoriel est indéniable. La pathogénie du virus, les infections et les néoplasies opportunistes, les traitements antirétroviraux et l'activation de l'auto-immunité sont les principaux mécanismes impliqués (1).

Généralités

En 2016, environ 36,7 millions de personnes vivaient avec le VIH dans le monde (2). Le VIH appartient au genre *Lentivirus* de la famille des *Retroviridae*. Les virus de cette famille sont caractérisés par un mode de réplication comprenant une étape de rétro transcription du génome viral (ARN) en génome proviral (ADN) grâce à l'action d'une enzyme virale : la transcriptase inverse. Deux types de VIH sont décrits au sein du genre *Lentivirus*: le VIH-1 et le VIH-2. Les principales cellules cibles du VIH sont : les lymphocytes T CD4+, les cellules du système monocyte/macrophage, les cellules microgliales et les cellules dendritiques. Les corécepteurs présents à la surface des cellules cibles sont nombreux. Les plus importants dans la physiopathologie de l'infection au VIH sont le CXCR4 (prédominants sur les lymphocytes T CD4+) et le CCR5 (prédominants sur les monocytes/macrophages) (3). En effet, l'infestation virale requiert la présence de l'un de ces 2 corécepteurs. L'infection virale a un effet létal sur les lymphocytes T CD4+ qui consiste en un effet cytopathogène et aboutit le plus souvent à la mort des cellules. En revanche, monocytes et macrophages peuvent supporter l'infection, constituant ainsi un réservoir viral, mais aussi un véhicule pour infecter précocement divers compartiments de l'organisme. Chez un individu infecté, les souches virales sont à tropisme monocyttaire ou macrophagique en début d'infection. Les souches à tropisme lymphocytaire, apparaissent généralement lorsque l'infection est plus évoluée.

L'infection évolue en 3 phases, la primo-infection, qui est caractérisée par une intense réplication virale détectable par la présence de l'ARN viral dans le plasma dès le 10-11^{ème} jour, la phase de portage asymptomatique, qui se traduit biologiquement par une virémie plasmatique en plateau associée à une relative stabilité du nombre de lymphocytes T CD4+ et qui correspond au contrôle de l'infection par le système immunitaire de l'hôte, et le stade SIDA, où on retrouve les pathologies opportunistes et néoplasiques. Sur le plan biologique, l'évolution est marquée par une diminution des lymphocytes T CD4+ alors que la charge virale subit une élévation importante. Quelque soit le stade de la maladie, le VIH peut-être la cause de manifestations hématologiques de sévérité variable, qui conditionnent le pronostic. En chef de file, on retrouve les cytopénies. Ces dernières

peuvent être soit isolées sous forme d'anémie, de thrombopénie ou de neutropénie, soit associées sous forme de bi- ou de pancytopenie. Par ailleurs, le VIH induirait un état d'hypercoagulabilité et une prédisposition aux thromboses par divers mécanismes. Le risque de maladie veineuse thromboembolique serait ainsi de 2 à 10 fois supérieur à celui d'une population saine (4). Des hémopathies malignes peuvent aussi compliquer l'infection à VIH. La fréquence des lymphomes non Hodgkiniens au cours de l'infection VIH est de 200 à 500 fois plus élevée que dans la population générale et celle de la maladie de Hodgkin 5 à 20 fois.

Cytopénies

Le VIH altère l'hématopoïèse. En effet, des traces du génome viral ont été retrouvées dans les cellules souches hématopoïétiques ainsi que dans les précurseurs hématopoïétiques. Cependant, hormis sa contribution à la latence virale, l'effet cytopathogène du virus sur les progéniteurs hématopoïétiques n'est pas encore démontré. Par ailleurs, les protéines virales induisent une sécrétion de cytokines inflammatoires par la cellule infestée (TNF alpha, interleukine 1 (IL-1), interleukine 6 (IL-6)) entraînant une altération du microenvironnement médullaire. L'IL6 est particulièrement intéressante car elle intervient dans la production de l'hepcidine, un des principaux régulateurs de l'homéostasie du Fer (5). D'autre part, l'infection des lymphocytes, des PNN et des macrophages entraîne une baisse du taux de Granulocyte Colony-stimulating factor (G-CSF) et une perturbation de la granulopoïèse normale. Bien que l'hyperleucocytose et la thrombocytose puissent être retrouvées au cours de l'infection par le VIH, les cytopénies sont les manifestations les plus fréquentes.

L'anémie

L'anémie est une des anomalies les plus couramment observées chez les patients infectés par le VIH. Elle peut survenir à différents stades de l'infection. Sa prévalence ainsi que sa sévérité sont en corrélation avec la progression de la maladie. Elle serait en moyenne de 8% à 18 % chez les patients asymptomatiques, de 20 % à 50% chez les patients symptomatiques, et de 71 % à 75% chez les patients au stade SIDA (6). Il est à noter que la prévalence de l'anémie est restée élevée même après l'arrivée des antirétroviraux hautement actifs (Highly Active Anti-Retroviral Therapy [HAART]), même si l'anémie sévère est de moins en moins fréquente. Dans l'étude EuroSIDA, la prévalence de l'anémie a été réduite après 12 mois de traitement antirétro-

viral de 64 % à 45,6 % pour les anémies modérées et de 1,5 % à 0,6 % pour les anémies profondes (7). Les mécanismes de l'anémie au cours de l'infection par le VIH sont multiples et intriqués rendant l'approche diagnostique souvent délicate.

L'anémie centrale

L'anémie chronique de l'infection par le VIH est classiquement une anémie inflammatoire. Elle est liée principalement à la synthèse de cytokines inflammatoires, dont l'augmentation est d'autant plus marquée que l'infection est à un stade avancé. Des anticorps anti-EPO ont été également détectés chez les patients infectés par le VIH et ont été individualisés comme étant un facteur de risque indépendant d'anémie (8). L'atteinte médullaire due aux affections opportunistes représente une autre cause majeure d'anémie centrale au cours de l'infection à VIH. Les principaux microorganismes impliqués dans la genèse d'une anémie au cours de l'infection par le VIH sont la tuberculose, les mycobactérioses atypiques, le Parvovirus B19, l'histoplasmosse, la cryptococcose, la coccidioïdomycose, la pneumocystose et la leishmaniose. Ces infections sont soit suspectées par le clinicien et recherchées activement, soit découvertes lors de la pratique d'un myélogramme avec myéloculture réalisé pour l'exploration de la cytopénie réfractaire. Le syndrome d'activation macrophagique est en incidence croissante chez les patients infectés par le VIH et peut mimer un tableau d'infection opportuniste ou de lymphome. On retrouve une fièvre, une hépatosplénomégalie, une hyperferritinémie et une bi ou pancytopenie. Au myélogramme, des images d'hémophagocytose sont objectivées (9).

Les anémies médicamenteuses sont aussi une cause majeure d'anémie au cours de l'infection à VIH. En chef de file, la Zidovudine, responsable d'anémie dans 34% des cas. Le principal mécanisme serait une inhibition de l'érythropoïèse. Elle a été nettement réduite après l'arrivée d'autres molécules et la réduction des posologies utilisées (10).

Les anémies carencielles sont aussi fréquentes au cours de l'infection par le VIH. Elles résulteraient principalement d'une carence en fer, en vitamine B12 ou en folate (11). Les causes de carences peuvent être multiples. La malabsorption intestinale, d'origine infectieuse (infections opportunistes à tropisme digestif) ou tumorale (sarcome de Kaposi digestif) est souvent en cause. Certains médicaments peuvent intervenir dans le métabolisme des folates comme le Cotrimoxazole et le Méthotrexate et peuvent être responsables d'anémie.

Par ailleurs, certaines comorbidités souvent associées au VIH comme l'alcoolisme et la dénutrition sont pourvoyeuses d'anémie (12).

L'anémie périphérique

L'anémie hémolytique est fréquente au cours de l'infection par le VIH. L'anémie hémolytique auto-immune est souvent en cause, 20 à 40% des patients atteints par le VIH présentent un test de Coombs direct positif (13). Toutefois, le caractère intriqué et multifactoriel de l'anémie au cours de l'infection à VIH rend souvent la présentation clinicobiologique atypique, avec une réticulocytose souvent peu marquée. Les microangiopathies thrombotiques associées au VIH sont aussi responsables d'hémolyse, principalement le PTT acquis qui serait dû à la formation d'anticorps anti-ADAMTS13 (14). Le déficit en G6PD est aussi retrouvé et il est important de le rechercher devant un tableau d'hémolyse car plusieurs médicaments fréquemment utilisés pour la prise en charge de l'infection par le VIH sont potentiellement inducteurs de crise hémolytique (Cotrimoxazole, Sulfadiazine, Quinolones) (15). Une autre cause d'anémie périphérique au cours de l'infection par le VIH est l'hémorragie. Les saignements digestifs sont les plus fréquents. Les principales causes identifiées dans la littérature sont la maladie ulcéreuse, les gastrites sévères et les œsophagites à cytomégalovirus (CMV) pour les hémorragies digestives hautes et la colite à CMV, le sarcome de Kaposi digestif, les infections à *Cryptosporidium*, *Shigella*, *Salmonella*, *Campylobacter*, *Clostridium difficile* et les ulcérations anorectales dues à *Herpes simplex*, à *Chlamydia trachomatis* ou à *Treponema pallidum* pour les hémorragies digestives basses (16).

La thrombopénie

L'incidence est de l'ordre de 3 % chez les patients avec un taux de lymphocytes CD4 supérieur à 700/mm³ et d'environ 30 % chez les patients avec un taux de CD4 inférieur à 200/mm³ et chez ceux au stade Sida (17). Les facteurs associés à une incidence élevée de la thrombopénie sont : l'âge avancé, la toxicomanie intraveineuse, l'existence d'un lymphome, la présence d'une anémie, la charge virale supérieure à 400 copies/ml, la présence d'une co-infection VIH-VHC. La thrombopénie peut avoir une origine centrale, avec altération de la mégacaryopoïèse par les cytokines inflammatoires, les néoplasies et infections opportunistes, les médicaments, ainsi que certaines carences comme la carence en vitamine B12 et en folates. L'origine périphérique des

thrombopénies est le résultat d'une immunité croisée entre le VIH et les glycoprotéines plaquettaires. En effet il existe des anticorps spécifiques du VIH qui partagent un épitope commun avec des anticorps anti-glycoprotéine GPIIb/IIIa à la surface des plaquettes (18). Le tableau clinique est globalement similaire à celui du purpura thrombopénique auto-immun.

Leucopénies

Au cours de l'infection par le VIH, plusieurs altérations quantitatives et qualitatives de la lignée granulocytaire ont été décrites, se traduisant par un défaut de chimiotactisme, d'adhésion, de phagocytose et de bactéricidie des polynucléaires neutrophiles ainsi que par un excès d'apoptose de ces derniers. Une dysrégulation d'origine cytokinique a également été évoquée comme étant au moins en partie responsable des anomalies observées au niveau des neutrophiles. Cette dysrégulation se manifeste par une baisse significative du taux du Granulocyte- et Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor (G-CSF et GM-CSF) chez les patients neutropéniques et par une réactivité sécrétoire diminuée du G-CSF après stimulation par l'IL6 (19). L'efficacité démontrée du G-CSF chez les patients neutropéniques infectés par le VIH vient à l'appui de ces constatations. Des neutropénies par hyperdestruction périphérique ont été également observées au cours de l'infection par le VIH. Elles seraient liées à l'immunité croisée existant entre les PNN et la gp120 du VIH (20). En pratique, on peut alors distinguer schématiquement, d'une part, les neutropénies dues indirectement au VIH à savoir les affections médullaires opportunistes, les neutropénies médicamenteuses et les carences vitaminiques, et d'autre part, les neutropénies liées directement au virus notamment les neutropénies immunes et les insuffisances médullaires dues au tropisme viral direct.

La lymphopénie est aussi une des manifestations caractéristiques de l'infection par le VIH. Le taux de lymphocytes T CD4+ constitue un facteur pronostique important et permet de stadifier la maladie selon la classification CDC 1993 (21).

Cytopénies et médicaments

L'introduction de la thérapie antirétrovirale hautement active (HAART) a entraîné une baisse très importante de la mortalité. Cependant, certains de ces médicaments provoquent fréquemment une toxicité hématologique. Plusieurs études ont montré que la zidovudine et la didéoxycytidine inhibent l'érythropoïèse et la granulopoïèse. Une leucopénie peut aussi être observée chez les

patients séropositifs traités par le ganciclovir, la pyriméthamine et la sulfadiazine, utilisées dans le traitement de la toxoplasmose, peuvent induire une leucopénie et une thrombopénie. Par ailleurs, les chimiothérapies utilisées dans le traitement des tumeurs malignes, en particulier les lymphomes, entraînent une pancytopénie du fait de la myélosuppression (22).

Troubles de l'hémostase

De nombreuses anomalies acquises de l'hémostase ont été rapportées au cours de l'infection par le VIH. Elles peuvent toucher non seulement les trois phases classiques : hémostase primaire, coagulation, et fibrinolyse, mais également certains des inhibiteurs physiologiques de la coagulation. L'infection par le VIH est très souvent à l'origine d'un état d'hypercoagulabilité. En effet, la maladie thromboembolique (MTE) est retrouvée avec une incidence 2 à 10 fois plus élevée chez les patients infectés par le VIH comparée à la population générale.

Hémostase primaire

La thrombopénie, abordée plus haut, est l'une des premières manifestations à être observées au cours de l'infection par le VIH. Elle est souvent peu sévère et bien tolérée, mais certaines thrombopénies de mécanisme immunologique, notamment les thrombopénies médicamenteuses, peuvent être sévères et s'accompagner de manifestations hémorragiques graves. L'arrêt du traitement entraînera une normalisation du chiffre de plaquettes en 5 à 10 jours (23).

L'élévation du Facteur de Von Willebrand (FVW) plasmatique est fréquente. Les phénomènes inflammatoires et la stimulation de la cellule endothéliale en seraient responsables. Une étude a démontré que la charge virale plasmatique était nettement corrélée à l'activité du FVW (24). Des thrombopathies liées au VIH ont aussi été décrites en particulier l'hyperactivité plaquettaire, responsable de thromboses (25).

Coagulation

Les monocytes des sujets infectés par le VIH expriment un taux plus important de facteur tissulaire (FT) que ceux des sujets non infectés. Le FT initie la cascade de la coagulation en se liant au facteur VII et en activant ce dernier (26).

L'existence d'un lupus anticoagulant, dépisté sur un allongement du temps de céphaline avec activateur (TCA), a été largement rapportée avec une incidence variable. Une thrombopénie est par ailleurs souvent retrouvée. La présence d'anticorps anti-cardiolipine a

aussi été décrite (27). Les anticorps anti-bêta 2 glycoprotéine 1 (B2GP1) quant à eux n'ont pas été décrits au cours de l'infection par le VIH. Certains auteurs pensent que la production des antiphospholipides (APL) est due à une hypergammaglobulinémie de type polyclonale, secondaire à un déséquilibre immunologique causé par la lyse des lymphocytes T CD4+, qui auraient un rôle régulateur sur les lymphocytes B. Pour d'autres, les APL sont principalement associés aux infections opportunistes. Par ailleurs, le déficit en protéine S (PS) libre est retrouvé avec une grande fréquence (30 à 80 %) chez les patients infectés par le VIH. Il est actuellement admis que le déficit en PS est un facteur important de thrombophilie en cas d'infection par le VIH (28). Cependant, leur implication dans l'apparition des thromboses chez ces patients n'a pas été démontrée. Une fréquence accrue de déficits quantitatifs en cofacteur II de l'héparine a aussi été rapportée. Leur prévalence est de 38,5% par rapport à 2,1% dans la population générale (29).

Fibrinolyse

L'infection par le VIH paraît être associée à une activation chronique du système fibrinolytique. Des taux élevés de marqueurs d'activation de la fibrinolyse (complexes plasmine-antiplasmin, D-dimères et produits de dégradation du fibrinogène) sont rapportés chez les sujets indépendamment du degré d'immunodépression. L'activation du système fibrinolytique serait réactionnelle à l'état prothrombotique (30).

Hémopathies malignes

Lymphomes non Hodgkiniens (LNH)

Les LNH représentent, après le sarcome de Kaposi, la deuxième pathologie tumorale observée au cours de l'infection par le VIH. Plusieurs mécanismes physiopathologiques interviennent dans le développement de ces lymphomes B associés au VIH. Le virus Epstein-Barr (EBV) infecte les lymphocytes B et les transforme en lignées lymphoblastoïdes. Il exprime des protéines oncogènes comme LMP1 (récepteur de type CD40 activé) et induit l'expression de NF- κ B, qui stimule la prolifération et inhibe l'apoptose. Les anomalies moléculaires et cytogénétiques secondaires à l'infection par le VIH (activation polyclonale des lymphocytes B par stimulation antigénique chronique et dysrégulation de la production des cytokines) sont aussi incriminées dans la lymphomagenèse (31). Au cours de l'infection par le VIH, le génome de l'EBV est retrouvé dans 30 à 70 % des cellules tumorales de LNH. Sa mise en évidence

dans les ganglions des hyperplasies folliculaires du VIH précédant un LNH et son caractère clonal dans les cellules tumorales montrent que l'infection par l'EBV précède la prolifération lymphomateuse et plaident en faveur du rôle pathogénique de celui-ci. Le plus souvent, on retrouve un lymphome B de haut grade (lymphome de Burkitt, lymphome B diffus à grandes cellules centroblastique ou immunoblastique) (32). La découverte d'un LNH au niveau du système nerveux central ou d'un LNH de haut grade, quelle qu'en soit la localisation, est un événement classant en stade SIDA avéré (stade C) (31).

Lymphome de Hodgkin (LH)

Le risque relatif de développer un LH pour un patient VIH par rapport à la population générale varie entre 5 et 25, avec une incidence de 1 cas pour 1000 personnes par an. Ce risque augmente quand le taux de lymphocytes CD4 est faible (entre 50 et 99/mm³), indépendamment de la charge virale du VIH. Sur le plan physiopathologique, l'EBV joue un rôle important, avec 80 à 100 % de détection in situ de l'EBV chez les patients VIH. Les cellules de Reed-Sternberg infectées par l'EBV expriment des EBER, EBNA-1, LMP-1 et LMP-2. LMP-1 est un oncogène viral qui entraîne la production d'une protéine transmembranaire qui active des voies de signalisation intracellulaire, ce qui confère à la cellule une activité proliférative et antiapoptotique (34). L'immunodépression contribue à la survenue des LH en inhibant le contrôle des cellules infectées par l'EBV.

L'infection par le VIH modifie la présentation clinique de la MH, avec une grande fréquence de stades III et IV, de signes généraux et de localisations extraganglionnaires.

Leucémies aiguës myéloïdes (LAM)

Murphy et al ont réussi à isoler en 1991 le VIH à partir de cellules myélomonoblastiques circulantes d'un patient séropositif présentant une LAM4. Les cellules myélomonoblastiques cultivées en l'absence de facteur de croissance exprimaient l'antigène p24 et la reverse transcriptase dans leur surnageant (35). Il s'agit cependant de la seule étude ayant réussi à mettre en évidence des particules virales dans des myéloblastes de patients malades. Des études récentes suggèrent cependant que les progéniteurs hématopoïétiques pourraient être des réservoirs du VIH à l'état latent. Ce rôle de réservoir augmenterait ainsi la susceptibilité des progéniteurs à l'apoptose, au développement de myélodysplasies et éventuellement au développement de leucémies aiguës (36).

Conclusion

Le VIH est responsable de manifestations hématologiques multiples et dont le mécanisme est multifactoriel. Cependant de meilleures connaissances de la base moléculaire et de la physiopathologie de l'infection par le VIH ont permis de mettre au point de nouveaux agents antirétroviraux qui non seulement induisent de meilleures réponses virologiques et immunologiques, mais qui ont aussi un impact beaucoup moins néfaste sur l'hématopoïèse que leurs prédécesseurs.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Lee B, Montaner LJ. Chemokine immunobiology in HIV-1 pathogenesis. *J Leukoc Biol.* mai 1999;65(5): 552-565.
2. Bbosa N, Kaleebu P, Ssemwanga D. HIV subtype diversity worldwide. *Curr Opin HIV AIDS.* 2019;14(3):153–160.
3. Moore JP, Kitchen SG, Pugach P, Zack JA. The CCR5 and CXCR4 Coreceptors—Central to Understanding the Transmission and Pathogenesis of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Infection. *AIDS Res Hum Retroviruses.* 2004;20(1):111-126.
4. Singh AK, Premnath D, Yadav KS. Human immunodeficiency virus-associated deep vein thrombosis. *Med J Dr Patil Univ.* 2016;9:98-100
5. Agus Somia IK, Merati TP, Bakta IM, Putra Manuaba IB, Yasa WPS, Sukrama IDM, et al. High levels of serum IL-6 and serum hepcidin and low CD4 cell count were risk factors of anemia of chronic disease in HIV patients on the combination of antiretroviral therapy. *HIVAIDS Auckl NZ.* 2019;11:133-139.
6. Serraj K, Mecili M, Housni I, Andrès E. Cytopenies et virus d'immunodéficience humaine. *Médecine Thérapeutique.* 2011;17(3):183-195.
7. Ferri RS, Adinolfi A, Orsi AJ, Sterken DJ, Keruly JC, Davis S, et al. Treatment of anemia in patients with HIV infection, Part 1: The need for adequate guidelines. *J Assoc Nurses AIDS Care JANAC.* 2001;12(6):39-51.
8. Tsiakalos A, Kordossis T, Ziakas PD, Kontos AN, Kyriaki D, Sipsas NV. Circulating antibodies to endogenous erythropoietin and risk for HIV-1-related anemia. *J Infect.* 2010;60(3):238-243.
9. Telles JP, de Andrade Perez M, Marcusso R, Correa K, Teixeira RFA, Tobias WM. Hemophagocytic syndrome in patients living with HIV: a retrospective study. *Ann Hematol.* 2019; 98(1):67-72.
10. Ezeamama AE, Sikorskii A, Bajwa RK, Tuke R, Kye-yune RB, Fenton JI, et al. Evolution of Anemia Types During Antiretroviral Therapy-Implications for Treatment

- Outcomes and Quality of Life Among HIV-Infected Adults. *Nutrients*. 2019;11(4):755.
11. Diop MM, Lawson AT, Leye MY, Berthe A, Faye FA, Dioussé P, et al. Déficit en vitamine B12 et infection au VIH (virus de l'immunodéficience humaine) : implication en Médecine Interne. *Rev Afr Médecine Interne*. 2019;6(1-2):45-47.
 12. Durand C, Potgieter J, Mellet J, Herd C, Khoosal R, Nel JG, et al. HIV and haematopoiesis super interesting. *S Afr Med J*. 2019;109(8b):40.
 13. Olayemi E, Awodu OA, Bazuaye GN. Autoimmune haemolytic anemia in HIV patients. *Ann Afr Med*. 2008;7(2):72-76.
 14. Yadava SK, Vyas V, Jain H, Fazili T. Thrombotic thrombocytopenic purpura associated with AIDS: challenges in diagnosis and management. *AIDS*. 2020;34(7):1101-1102.
 15. Araujo T, Katiyar V, Gonzales Zamora JA. Acute Retroviral Syndrome Presenting with Hemolytic Anemia Induced by G6PD Deficiency. *Trop Med Infect Dis*. 2019;4(1):6.
 16. Chalasani N, Wilcox CM. Gastrointestinal hemorrhage in patients with AIDS. *AIDS Patient Care STDs*. 1999;13(6):343-346.
 17. Pitale U, Muthusamy D, Verma M, Pal P, Ayesha H, Murru K, et al. Human immunodeficiency virus-associated thrombocytopenia: Profiling hematological changes in the human immunodeficiency virus-infected and AIDS patients. *Indian J Health Sci Biomed Res KLEU*. 2018;11(3):234.
 18. Vega LE, Espinoza LR. HIV infection and its effects on the development of autoimmune disorders. *Pharmacol Res*. 2018;129:1-9.
 19. Hensley-McBain T, Klatt NR. The Dual Role of Neutrophils in HIV Infection. *Curr HIV/AIDS Rep*. 2018;15(1):1-10.
 20. Shi X, Sims MD, Hanna MM, Xie M, Gulick PG, Zheng Y-H, et al. Neutropenia during HIV infection: adverse consequences and remedies. *Int Rev Immunol*. 2014;33(6):511-536.
 21. Bhardwaj S, Almaeen A, Ahmed Wani F, Thirunavukkarasu A. Hematologic derangements in HIV/AIDS patients and their relationship with the CD4 counts: a cross-sectional study. *Int J Clin Exp Pathol*. 2020;13(4):756-763.
 22. Zidovudine-induced reversible pure red cell aplasia [Internet]. [cité 18 août 2020]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2937323/>
 23. Marchionatti A, Parisi MM. Anemia and thrombocytopenia in people living with HIV/AIDS: a narrative literature review. *Int Health* [Internet]. [cité 5 sept 2020]; Disponible sur: [https://academic.oup.com/inthealth/advance-](https://academic.oup.com/inthealth/advance-article/doi/10.1093/inthealth/ihaa036/5867538)
 24. Graham SM, Chen J, Le J, Ling M, Chung DW, Liles WC, et al. Von Willebrand Factor Adhesive Activity and ADAMTS13 Protease Activity in HIV-1-Infected Men. *Int J Med Sci*. 2019;16(2):276-284.
 25. Paolo Gresele EF, Paolo Gresele EF. Highly Active Antiretroviral Therapy-related Mechanisms of Endothelial and Platelet Function Alterations. *Rev Cardiovasc Med*. 2019;15(S1):9-20.
 26. Funderburg NT, Mayne E, Sieg SF, Asaad R, Jiang W, Kalinowska M, et al. Increased tissue factor expression on circulating monocytes in chronic HIV infection: relationship to in vivo coagulation and immune activation. *Blood*. 2010;115(2):161-167.
 27. Jackson BS, Pretorius E. Pathological Clotting and Deep Vein Thrombosis in Patients with HIV. *Semin Thromb Hemost*. 2019;45(2):132-140.
 28. Levine A, Vigen C, Gravink J, Mack W, Watts C, Liebman H. Prot S HIV. *J Acquir Immune Defic Syndr* 1999. 2006;42:572-577.
 29. Toulon P. [Hemostasis and human immunodeficiency virus (HIV) infection]. *Ann Biol Clin (Paris)*. avr 1998;56(2): 153-160.
 30. Klein SK, Slim EJ, de Kruif MD, Keller TT, ten Cate H, van Gorp ECM, et al. Is chronic HIV infection associated with venous thrombotic disease? A systematic review. *Neth J Med*. 2005;63(4):129-136.
 31. Grogg KL, Miller RF, Dogan A. HIV infection and lymphoma. *J Clin Pathol*. 20 déc 2006;60(12):1365-1372.
 32. Corti M, de Dios Soler M, Bare P, Villafañe MF, De Tezanos Pinto M, Perez Bianco R, et al. [AIDS related lymphomas: Histopathological subtypes and association with Epstein Barr virus and Human Herpes virus type-8]. *Medicina (Mex)*. 2010;70(2):151-178.
 33. Aboulafia DM. Non-Hodgkin lymphoma in people with HIV. *Lancet HIV*. 2019;6(4):e209-10.
 34. Swart L, Novitzky N, Mohamed Z, Opie J. Hodgkin lymphoma at Groote Schuur Hospital, South Africa: the effect of HIV and bone marrow infiltration. *Ann Hematol*. 2019;98(2):381-389.
 35. Murthy AR, Ho D, Goetz MB. Relationship between acute myelomonoblastic leukemia and infection due to human immunodeficiency virus. *Rev Infect Dis*. 1991;13(2): 254-256.
 36. Takahashi K, Yabe M, Shapira I, Pierce S, Garcia-Manero G, Varma M. Clinical and cytogenetic characteristics of myelodysplastic syndrome in patients with HIV infection. *Leuk Res*. 2012;36 (11):1376-1379.

ARTICLE ORIGINAL

Profils bactériologique et épidémiologique des infections du site opératoire en chirurgie maxillo-faciale

Bacteriological and epidemiological profiles of surgical site infections associated with maxillofacial surgery

Lamia Tilouche^{1,2}

Refka Ben Dhia^{1,2}

Nesrine Kalboussi^{2,3}

Inès Hamila²

Soumaya Ketata^{1,2}

Olfa Bouallegue^{1,4}

Chérifa Chaouch^{1,2}

Noureddine Boujaâfar^{1,2}

Habib Khochtali⁵

1 Laboratoire de Microbiologie,
Centre Hospitalo- Universitaire
Sahloul, Sousse, Tunisie

2 Faculté de pharmacie de
Monastir, Université de
Monastir, Monastir, Tunisie

3 Service de Pharmacie, Centre
Hospitalo - Universitaire
Sahloul, Sousse, Tunisie

4 Faculté de médecine Ibn el
Jazzar, Université de Sousse,
Sousse Tunisie.

5 Service de Chirurgie maxillo-
faciale, Centre Hospitalo-
Universitaire Sahloul, Sousse,
Tunisie

Résumé

Introduction

Les études nationales tunisiennes portant sur les infections du site opératoire en chirurgie maxillo-faciale sont rares. L'objectif de notre travail est de dresser le profil bactériologique et clinico-épidémiologique de ces infections.

Méthodes

Etude descriptive rétrospective réalisée au sein du laboratoire de Microbiologie sur une période de 6 ans portant sur les souches bactériennes isolées à partir de prélèvements des patients opérés dans le service de chirurgie maxillo-faciale et présentant une suspicion d'infection du site opératoire.

Résultats

Les patients inclus étaient de prédominance masculine avec une moyenne d'âge de 59 ans. Le cancer (n=29) et le tabac (n=27) étaient les principaux terrains observés. Soixante quinze pour cent (75%) des patients ont été opérés pour un carcinome. Au total 68 germes ont été isolés avec une prédominance des entérobactéries (45,59%) et des BGN non fermentatifs (26,47%) plus précisément *P. aeruginosa* (25%). La résistance des isolats d'entérobactéries était de 100% et 87% respectivement pour l'ampicilline et l'amoxicilline-acide clavulanique. Nous avons colligé 10 bactéries multi-résistantes dont 8 isolats d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération, une souche résistante à l'ertapénème et une souche de *Pseudomonas aeruginosa* résistante à la ceftazidime. L'antibiothérapie probabiliste la plus prescrite (amoxicilline-acide clavulanique) était inefficace dans 74% des cas.

Conclusion

Les infections du site opératoire nécessitent une prise en charge pluridisciplinaire et particulièrement une utilisation d'antibiothérapie probabiliste adéquate.

Mots-clés : Infection de site opératoire; Chirurgie maxillo-faciale ; bactériologie; antibio-résistance.

Abstract

Introduction

Surgical site infections associated with maxillofacial surgery are rarely studied in Tunisia. The aim of our study is to describe the clinico-bacteriological profile and the epidemiological aspects of these infections.

Methods

This retrospective, descriptive study was carried out on a 6-years period. We included all the infected samples collected from operated patients in the maxillofacial surgery department in whom a surgical site infection was suspected.

Results

The patients included in the study had an average age of 59 years and were mainly male. Cancer (n=29) and tobacco use (n=27) were the most common conditions found in these patients. Among them, 75% underwent a carcinoma surgical resection. Overall, 68 bacterial pathogens were isolated. The *Enterobacteriaceae* family was the most common isolated species (45.59%), followed by non-fermentative Gram negative bacilli (26.47%). All the *Enterobacteriaceae* isolates showed 100% and 87% resistance respectively to ampicillin and amoxicillin-clavulanic acid. 10 Gram negative bacteria were multidrug resistant including; 9 *enterobacteria* strains among them 8 were resistant to third-generation cephalosporins and 1 resistant to ertapenem, in addition to 1 *P. aeruginosa* strain that was resistant to ceftazidim. The empirical prescribed antibiotic treatment was mainly amoxicillin-clavulanic acid and was ineffective in 74% of the cases.

Conclusion

Surgical site infections encountered in maxillofacial surgeries require a standardized multidisciplinary medical care and an adequate prescription of empirical antibiotic treatment.

Keywords : Surgical wound infection; maxillofacial surgery; bacteriology; antibiotic resistance.

Introduction

«Une infection du site opératoire (ISO) est une complication infectieuse directement liée à l'acte chirurgical. Elle est dite associée aux soins lorsqu'elle survient dans les 30 jours suivant l'intervention, ou, s'il y a eu mise en place d'un implant ou de matériel prothétique, dans l'année suivant l'intervention (1). Si le risque d'ISO a toujours existé, il s'est accru avec l'évolution des pratiques de soins, le développement de nouvelles techniques chirurgicales et le recrutement de patients de plus en plus vulnérables. En Tunisie, les ISO représentent 21,4% des infections associées aux soins d'après une étude publiée en 2016 et constituent un problème majeur de santé publique étant donné la morbi-mortalité et l'augmentation du coût de prise en charge qu'elles engendrent (2). La chirurgie maxillo-faciale (CMF), à laquelle on a recours pour corriger des anomalies dento-faciales, pour réparer les conséquences d'un traumatisme ou pour prendre en charge des tumeurs bénignes ou malignes de la cavité buccale n'est pas exempte de complications infectieuses potentielles pouvant survenir en période postopératoire (3). La surveillance épidémiologique, une composante essentielle dans l'action de prévention de ces infections est devenue une priorité depuis plusieurs années partout dans le monde et en l'occurrence en Tunisie. Les études nationales tunisiennes portant sur les ISO en chirurgie maxillo-faciales restent rarissimes. C'est pourquoi nous nous sommes fixés comme objectifs de dresser le profil bactériologique et épidémiologique des ISO au service de CMF de notre structure hospitalière.

Matériel et méthodes

Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective réalisée au sein du laboratoire de Microbiologie de notre CHU sur une période de 6 ans (Janvier 2013-Décembre 2018). Elle a concerné toutes les souches bactériennes isolées à partir de prélèvements effectués chez des patients opérés et hospitalisés au moins 48 heures dans le service de CMF et présentant une suspicion clinique d'ISO. Pour chaque patient, un prélèvement de pus a été effectué par écouvillonnage ou par ponction à l'aide d'une seringue

stérile à usage unique. Les échantillons obtenus étaient traités selon les procédures en vigueur dans le laboratoire. L'ensemencement des prélèvements a été effectué sur gélose au sang et sur un bouillon d'enrichissement, incubés en aérobiose à 37°C. Les pus profonds ont été de plus cultivés sur une gélose Schaedler avec 5% de sang de mouton avec et sans addition de kanamycine et de vancomycine incubée en anaérobiose, sur une gélose au sang cuit additionnée d'isovitalex sous 5% de CO₂, et sur des flacons Bact/ALERT FA et FN (BioMérieux). La durée d'incubation était de 5 jours au minimum. L'identification des bactéries isolées a été réalisée en utilisant les galeries API et/ou les cartes Vitek (BioMérieux France). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé et/ou sur l'automate Vitek (BioMérieux France). L'interprétation des résultats a été effectuée selon les recommandations de l'année en cours du comité de l'antibiothérapie de la société Française de microbiologie (CA-SFM). Les données clinico-épidémiologiques ont été recueillies pour les patients chez qui le diagnostic d'infection du site opératoire a été retenu et dont les résultats bactériologiques étaient positifs.

Résultats

Caractéristiques bactériologiques des infections du site opératoire au service de Chirurgie maxillo-faciale

Pendant la période d'étude, pour les 7548 patients ayant eu une intervention aux blocs opératoires, 66 prélèvements ont été réalisés au service de chirurgie maxillo-faciale et parvenus au laboratoire de Microbiologie pour suspicion d'ISO. L'analyse bactériologique de ces prélèvements a donné lieu à 40 cultures positives soit un rendement bactériologique de 60,6% et un taux d'incidence d'ISO avec diagnostic bactériologique positif de 0,53 % avec un intervalle de confiance à 95% de [0,519-0,541]. Il s'agissait de 23 cultures monomicrobiennes et 17 cultures polymicrobiennes qui ont permis au total d'identifier 68 espèces bactériennes (**Tableau 1**).

Tableau 1 : Germes identifiés dans les infections du site opératoire au service de chirurgie maxillo-faciale

Germes	Distribution des germes isolés d'ISO au service de CMF		Écologie bactérienne en CMF
	Effectif (nombre)	Pourcentage (%)	Pourcentage (%)
Germes aérobies	61	92,65	81,4
Bacilles à Gram négatif	49	72,06	36,74
Entérobactéries	31	45,59	23,37
<i>Escherichia coli</i>	3	4.41	4,57
<i>Proteus mirabilis</i>	2	2.94	3 ,33
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9	13.24	5,2
<i>Citrobacter Koseri</i>	2	2.94	1
<i>Enterobacter sp</i>	10	14.714	5,4
<i>Morganella morganii</i>	3	4.41	2
<i>Serratia marcescens</i>	2	2.94	1,87
BGN non fermentatifs	18	26,47	13,37
<i>Acinetobacter baumannii</i>	1	1.47	1,37
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17	25	12
Cocci à Gram positif	14	20.59	39,66
<i>Staphylococcus</i>	2	2.94	9,35
<i>Streptococcus</i>	12	17.65	29,31
<i>Entérocoques</i>	-	-	1
Autres bactéries aérobies	-	-	5
Germes anaérobies	5	7.35	18,6
<i>Prevotella spp</i>	2	2.94	12,5
<i>Peptostreptococcus spp</i>	1	1.47	1,5
<i>Autres BGN anaérobies</i>	2	2,94	4
Bacilles à Gram positif anaérobies	-	-	0,6
Total	68	100	100

Distribution des germes isolés

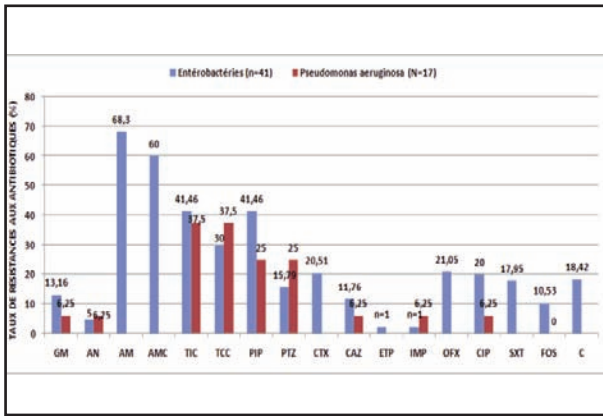
Nous avons observé une prédominance des bacilles à Gram négatif (BGN) aérobies en tête desquels on trouve les entérobactéries (45,59%) plus particulièrement ceux du groupe 3 (22,06%) et les BGN non fermentatifs (26,47%) plus précisément *P. aeruginosa* (25%). Les cocci à Gram positif (CGP) et les bactéries anaérobies ont représenté respectivement 20,59 % et 7,35 %.

Sensibilité aux antibiotiques

Dans notre série, la résistance des isolats d'entérobactéries était de 100%, 87% et de 27,58% respectivement pour l'ampicilline, l'association amoxicilline-acide cla-

vulanique et le Céfotaxime. Les taux de résistance des entérobactéries pour les aminosides étaient plutôt faibles évalués à 6,66% pour l'amikacine et 17,58 % pour la gentamicine. En revanche la résistance aux fluoroquinolones des entérobactéries était aux alentours de 30%. Les isolats de *Pseudomonas aeruginosa* présentaient des taux de résistance de 37,5 %, de 25% et de 6,25 % respectivement à la ticarcilline, à la pipéracilline-tazobactam et à la ceftazidime. Le taux de résistance enregistré à la ciprofloxacine et à l'amikacine était de 6,25 %. Sur les 12 souches de streptocoques isolées, six étaient de sensibilité diminuée aux Pénicillines. (**Figures 1 et 2**)

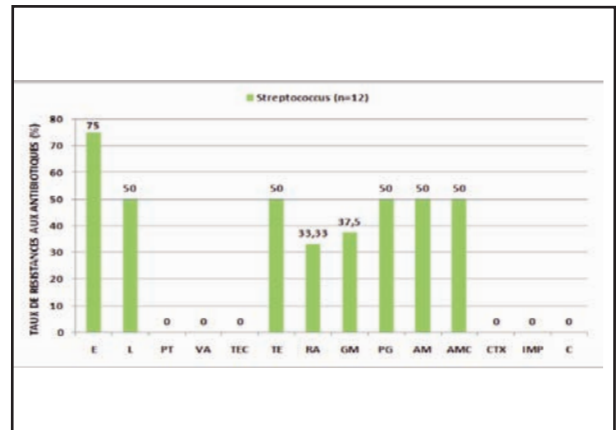
Figure 1 : Etat de la résistance aux antibiotiques des bactéries Gram négatif isolées au cours des infections du site opératoire au service de Chirurgie maxillo-faciale



AM : Ampicilline, AMC : Amoxicilline-Acide clavulanique, AN : Amikacine, C : Chloramphénicol, CAZ : Ceftazidime, CIP : Ciprofloxacine, CTX : Céfotaxime, ETP : Ertapénème, FOS : Fosfomycine, GM : Gentamicine, IMP : Imipénème, OFX : Ofloxacin, PIP : Pipéracilline, PTZ : Pipéracilline-Tazobactam, SXT : Triméthoprim- Sulfaméthoxazole, TCC : Ticarcilline-Acide clavulanique, TIC : Ticarcilline.

À l'issue de notre étude, 10 bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR) ont été recensées dont 8 isolats d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération, une seule souche résistante à l'ertapénème qu'on pourrait qualifier de bactérie hautement résistante émergente (BHRe) et une seule souche de *P. aeruginosa* résistante à la ceftazidime. Le taux d'isolement de BMR s'élève ainsi à 20,4% parmi les bacilles à Gram négatif. En revanche, aucune souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline (SARM), ni d'*Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine (ERV) n'avaient été isolés.

Figure 2 : Etat de la résistance aux antibiotiques des bactéries du genre Streptococcus isolées au cours des infections du site opératoire au service de Chirurgie maxillo-faciale



AM : Ampicilline, AMC : Amoxicilline-Acide clavulanique, C : Chloramphénicol, CTX : Céfotaxime, E : Erythromycine, GM : Gentamicine, IMP : Imipénème, L : Lincomycine, PG : Pénicilline G, PT : Pristinamycine, RA : Rifampicine, TEC : Teicoplanine, TE : Tétracycline, VA : Vancomycine.

Caractéristiques épidémiologiques et cliniques des patients ayant développé une infection du site opératoire au service de chirurgie maxillo-faciale à culture positive :

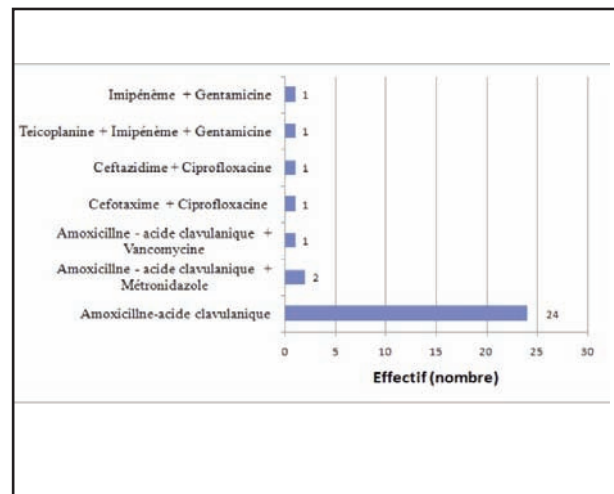
La population d'étude était constituée de 25 hommes et 15 femmes soit un *sex-ratio* de 1,66. L'âge moyen était de 59 ans avec des extrêmes de 18 et 84 ans. Les principaux terrains observés étaient le cancer (n=29), le tabagisme (n=27) et le diabète (n=12). La durée moyenne du séjour préopératoire était de 4 jours avec des extrêmes allant de 1 à 27 jours. La répartition des patients selon l'étiologie de l'intervention initiale est représentée dans le **Tableau 2**.

Tableau 2 : Répartition des interventions initiales

	Nature de l'intervention initiale	Effectif (nombre)	Pourcentage (%)	(Total (%))
Carcinomes (n=30)	Carcinome gingivo-mandibulaire	15	37.5	75
	Autres carcinomes de la cavité buccale	4	10	
	Carcinome spino-cellulaire	4	10	
	Carcinome épidermoïde du pavillon de l'oreille	2	5	
	Carcinome épidermoïde de la face interne de la joue	2	5	
	Carcinome épidermoïde de la lèvre inférieure	1	2.5	
	Cancer de la langue	2	5	
Cellulites (n=5)	Cellulite génienne	2	5	12.5
	Cellulite orbitaire droite	1	2.5	
	Autres cellulites cervico-faciale	2	5	
Autres (n=5)	Ostéoradionécrose	2	5	12.5
	Améloblastome	1	2.5	
	Malformation artério-veineuse du pavillon de l'oreille	1	2.5	
	Aplasia congénitale du vertex	1	2.5	

Figure 3 : Répartition de l'antibiothérapie probabiliste par patient

La tuméfaction (n= 37), la douleur (n=36), la mauvaise cicatrisation (n=36) ainsi que la présence d'un écoulement purulent au niveau de la plaie opératoire (n=32) étaient les signes en faveur d'une ISO les plus fréquemment décrits. Le délai d'apparition des signes cliniques a varié de 24h à 27 jours avec une moyenne de 9,5 jours. L'antibiotique le plus utilisé en antibioprophylaxie était l'amoxicilline- acide clavulanique seul (n=25) ou associé au métronidazole (n=8). Au total, 31 patients ont bénéficié d'une antibiothérapie probabiliste. Il s'agissait d'une monothérapie dans 77.5% des cas. La répartition des antibiotiques prescrits en probabiliste est détaillée



dans la **Figure 3**.

Discussion

La chirurgie maxillo-faciale et buccale a été catégorisée par les Centres pour le contrôle et la prévention des maladies (CDC) comme étant une chirurgie propre – contaminée tout comme les chirurgies qui touchent le tractus gastro-intestinal (4). En raison de l'utilisation de différents protocoles chirurgicaux, rendant la comparaison entre les études difficile, l'incidence exacte des ISO en chirurgie maxillo-faciale et buccale demeure inconnue et divers taux ont été signalés. En effet, une étude réalisée au Canada a rapporté une fréquence d'ISO estimée à 8% (5). Une autre réalisée dans un centre hospitalo-universitaire au Royaume-Uni, a rapporté un taux d'ISO en CMF de 4,78% (6). Toutefois, un travail mené dans le Département de CMF de l'Université Federico II de Naples a montré que 2,4% des patients ont développé une infection postopératoire (3).

Le terrain semble constituer un facteur de risque favorisant pour la survenue des ISO [7]. Les principaux antécédents observés dans notre série étaient le cancer (n=29) et le tabagisme (n=27). La littérature rapporte que chez les patients atteints de cancers de la tête et du cou (Head and neck cancers : HNC), l'ISO était la complication la plus fréquente (8). Les HNC constituent le sixième type de cancer le plus courant, représentant environ 650 000 nouveaux cas de cancer et 350 000 décès par cancer dans le monde chaque année (9). Par ailleurs, parmi les chirurgies buccales et maxillo-faciales, la chirurgie du cancer de la bouche avec reconstruction microvasculaire à lambeau libre présente le plus grand pouvoir invasif et une incidence élevée d'ISO (10). Le deuxième facteur associé à la survenue d'ISO dans notre population est le tabagisme. Une étude récente a affirmé que le tabagisme était fortement associé au risque de survenue d'ISO et avait montré que les patients qui s'abstenaient de fumer le jour de l'opération chirurgicale étaient moins susceptibles de développer une ISO (11)]. En revanche, Davis *et al.* n'ont pas trouvé d'association statistiquement significative entre le tabagisme et la survenue ISO. Étonnamment, ils ont montré que la prévalence des non-fumeurs était supérieure à celle des fumeurs dans l'échantillon global (5).

Les ISO peuvent être facilitées par des facteurs liés à l'acte chirurgical, comme la durée du séjour préopératoire et le type de l'intervention initiale. La littérature montre qu'une durée de séjour préopératoire prolongée, constitue un facteur augmentant le risque d'ISO (12). Ceci peut être expliqué par la colonisation par des germes hospitaliers, la pression de sélection exercée par les antibiotiques ainsi que l'exposition à des procédures diagnostiques multiples (13). Des études suggèrent que la durée doit être réduite pour que la flore du patient ne

soit pas susceptible de subir des modifications. Ces modifications surviennent en 3 à 4 jours et les germes sensibles, laisseront la place à des BMR (3). Dans notre étude, la durée moyenne était de 4 jours avec des extrêmes allant de 1 à 27 jours. Les interventions initiales qui ont le plus prédisposé à une ISO sont celles effectuées par voie buccale plus précisément touchant la mandibule. En effet, 75% des patients ont été opérés pour un carcinome dont 47,5% sont des carcinomes de la cavité buccale. Ceci peut être expliqué par le fait qu'après résection d'un cancer buccal avancé, la cavité buccale et la région cervicale communiquent exposant ainsi le tissu cervical à la salive contaminée par des bactéries et des sécrétions des voies respiratoires. D'autre part, l'approvisionnement en sang de la mandibule est plus faible que les maxillaires. Les forces gravitationnelles font que la salive et les aliments s'accumulent dans la mandibule. Les bactéries peuvent ainsi entrer librement les plaies chirurgicales qui prennent jusqu'à 3 jours pour cicatrifier (5,14).

D'autres facteurs liés à l'acte chirurgical, comme la durée de l'intervention, l'expérience du chirurgien, les difficultés techniques rencontrées et des facteurs liés au contexte hospitalier, comme le niveau d'hygiène peuvent favoriser le risque de survenue d'ISO (5,15,16). La majorité des germes responsables d'ISO sont inoculés de la flore résidente des patients présente au niveau ou à proximité du site opéré durant l'incision. Il s'agit principalement de *Staphylococcus aureus* et des *Staphylocoques à coagulase négative* qui sont des commensaux de la peau (13,17). Les sources exogènes totalisent 10% des réservoirs d'infection postopératoire (18). Ils peuvent inclure non seulement l'équipe chirurgicale et paramédicale mais aussi l'environnement du bloc opératoire et tout le matériel qui entre en contact avec le site opératoire (19). Dans notre étude, les entérobactéries représentaient 45,59% des germes isolés, suivis par les BGN non fermentatifs (26,47%) et les CGP (20,59%). *P. aeruginosa* était l'espèce prédominante (25%) suivie par les espèces du genre *Enterobacter* (14,74%). Par comparaison à l'écologie bactérienne habituelle du service de CMF de notre centre hospitalo-universitaire, on a noté une diminution de la proportion relative aux CGP et aux anaérobies au profit des entérobactéries avec une forte proportion des entérobactéries du groupe 3 et des BGN non fermentatifs dont *P. aeruginosa* était le chef de file ; deux groupes de bactéries naturellement résistants à l'association amoxicilline – acide clavulanique. Les résultats de Golzarri *et al.* dans leur étude concernant les ISO chez les patients cancé-

reux étaient conformes à nos résultats. Ils ont rapporté que les BGN étaient prédominants avec une forte proportion d'*E. coli* suivis par d'autres BGN et par *Staphylococcus aureus* (20). Dans le même ordre d'idée, Chevalier *et al.* à Dakar avaient observé une forte prédominance de *P. aeruginosa* (21). Quant à Karakida *et al.* ils ont rapporté que les principales bactéries isolées dans ce genre d'infections étaient *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* (10). Inversement, d'autres études ont montré que la plupart des infections après CMF sont causées par un complexe de bactéries orales endogènes généralement constituées de cocci aérobies et de bactéries anaérobies à Gram positif (22).

Cette différence dans la distribution des espèces bactériennes semble être liée à l'écologie microbienne de l'hôpital et surtout du service concerné. Chow *et al.* ont constaté dans leur étude que la plupart des infections étaient polymicrobiennes. Les infections à bactéries anaérobies représentaient 50% des cas alors que les streptocoques étaient responsables de 43,1% des infections. Les bactéries du genre *Pseudomonas* et *Enterobacter* ont été identifiées respectivement dans 24,1% et 22,4% des cas (23). Cela prouve que les patients développent des infections du site opératoire à partir de leurs propres germes mais ils peuvent aussi acquérir des germes apportés par l'environnement ou par les autres patients à l'occasion de leur séjour à l'hôpital (24). Le fait que les ISO au service de CMF soient majoritairement dues à *P.aeruginosa* et à des entérobactéries du groupe 3 souligne la réalité de cette situation car il s'agit de germes nosocomiaux par excellence. A l'issue de notre travail, on a remarqué que l'association amoxicilline-acide clavulanique était la molécule la plus utilisée dans le protocole d'antibioprophylaxie du service de CMF et ceci conformément aux recommandations de la Société Française d'anesthésie-réanimation (25). Elle était aussi la plus prescrite dans le cadre de traite-

ment probabiliste des ISO dans l'attente des résultats des antibiogrammes. Ceci a sans doute joué un rôle dans la sélection de souches bactériennes résistantes à cet antibiotique. D'ailleurs, au vu de nos résultats bactériologiques, cette antibiothérapie probabiliste était inefficace dans 74% des cas.

Une étude publiée en 2015 avait dressé le profil microbiologique des ISO chez des patients cancéreux. Il en ressortait que durant les sept ans d'étude, les BGN étaient responsables de la majorité des ISO et 77% des isolats d'*E. coli* étaient producteurs de bêta-lactamase à spectre étendu. Les SARM étaient isolées dans 34% des cas et les ERV dans 13% des cas (20). L'émergence de BMR (évalués à 20, 4% pour les BGN dans notre travail) voire de BHR favorise la survenue d'échecs conduisant parfois à des situations d'impasse thérapeutique. Une telle situation tire la sonnette d'alarme et nécessite la mise en œuvre d'actions concertées dans le but de préserver les antibiotiques par une utilisation rationnelle et de lutter contre la dissémination des bactéries multi-résistantes.

Conclusion

Les infections du site opératoire (ISO) au service de CMF de notre structure hospitalière constituent des complications peu fréquentes. Mais, il convient de prendre des mesures préventives afin de limiter leur survenue car ils sont responsables de morbi-mortalité considérable particulièrement pour les malades à haut risque infectieux. Une surveillance systématique de la résistance aux antibiotiques doit être mise en place afin d'éviter l'émergence des BMR au service de CMF. Des protocoles d'antibioprophylaxie locaux et nationaux ainsi que des antibiogrammes écrits doivent être établis régulièrement, réévalués localement par l'ensemble des intervenants (chirurgiens, anesthésistes réanimateurs, infectiologues, microbiologistes et pharmaciens) et en fonction de l'écologie bactérienne des principales infections dans chaque service et de chaque structure hospitalière.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Définition des infections associées aux soins (IAS). Ministère de la Santé et des Solidarités. Hygiène, 2007, N° 2, p. 113-116.
2. Mohamed Hedfi, Hassen Khouni, Youssra Massoudi, Cherif Abdelhedi, Karim Sassi, Adnen Chouchen. Epidemiology of nosocomial infections: About 70 cases. La Tunisie Médicale - 2016 ; Vol 94 (n°07) : 401-406.
3. Friscia M, Sbordone C, Petrocelli M, Vaira LA, Attanasi F, Cassandro FM, et al. Complications after orthognathic surgery: our experience on 423 cases. Oral Maxillofac Surg. 2017;21(2):171-7.
4. Mangram AJ, Horan TC, Pearson ML, Silver LC, Jarvis WR. Guideline for Prevention of Surgical Site Infection, 1999. Centers for Disease Control and Prevention (CDC) Hospital Infection Control Practices Advisory Committee. Am J Infect

- Control. *avr* 1999;27(2):97-132; quiz 133-4; discussion 96.
5. Davis CM, Gregoire CE, Steeves TW, Demsey A. Prevalence of Surgical Site Infections Following Orthognathic Surgery: A Retrospective Cohort Analysis. *J Oral Maxillofac Surg.* 2016;74(6): 1199-206.
 6. Maharaj K, Sisson R. Surgical Site Infection Rate Following Oral and Maxillofacial Surgery at a UK Based Unit. *Br J Oral Maxillofac Surg.* 2019;57(10):e11.
 7. Korol E, Johnston K, Waser N, Sifakis F, Jafri HS, Lo M, et al. A Systematic Review of Risk Factors Associated with Surgical Site Infections among Surgical Patients. Khan AU, éditeur. *PLoS ONE.* 2013;8(12):e83743.
 8. Park SY, Kim MS, Eom JS, Lee JS, Rho YS. Risk factors and etiology of surgical site infection after radical neck dissection in patients with head and neck cancer. *Korean J Intern Med.* 2015;31(1):162-9.
 9. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin.* 2011;61(2):69-90.
 10. Karakida K, Sakamoto H, Aoki T, Ota Y, Yamazaki H, Otsuru M, et al. Analysis of risk factors for surgical-site infections in 276 oral cancer surgeries with microvascular free-flap reconstructions at a single university hospital. *J Infect Chemother.* 2010;16(5):334-9.
 11. Nolan MB, Martin DP, Thompson R, Schroeder DR, Hanson AC, Warner DO. Association Between Smoking Status, Preoperative Exhaled Carbon Monoxide Levels, and Postoperative Surgical Site Infection in Patients Undergoing Elective Surgery. *JAMA Surg.* 2017;152(5):476.
 12. Chukwuanukwu T, Ikeanyi U, Chukwuka C. Risk factors for surgical site infections following clean orthopaedic operations. *Niger J Clin Pract.* 2013;16(4):443.
 13. Astagneau P, L'Hériveau F, Daniel F, Parneix P, Venier A-G, Malavaud S, et al. Reducing surgical site infection incidence through a network: results from the French ISO-RAISIN surveillance system. *J Hosp Infect.* 2009;72(2):127-34.
 14. Wahab PUA, Narayanan V, Nathan S, Madhulaxmi. Antibiotic prophylaxis for bilateral sagittal split osteotomies: a randomized, double-blind clinical study. *Int J Oral Maxillofac Surg.* 2013;42(3):352-5.
 15. Bouchard C, Lalancette M. Infections After Sagittal Split Osteotomy: A Retrospective Analysis of 336 Patients. *J Oral Maxillofac Surg.* 2015;73(1):158-61.
 16. Malone DL, Genuit T, Tracy JK, Gannon C, Napolitano LM. Surgical Site Infections: Reanalysis of Risk Factors. *J Surg Res.* 2002;103(1):89-95.
 17. Wilson J, Ramboer I, Suetens C. Hospitals in Europe Link for Infection Control through Surveillance (HELICS). Inter-country comparison of rates of surgical site infection – opportunities and limitations. *J Hosp Infect.* 2007;65:165-70.
 18. ITTAH-DESMEULLES H. Prévention des infections du site opératoire, préparation cutanée de l'opéré: Etat actuel des connaissances. *Prog En Urol Paris.* 2004;14(2):26-7.
 19. Di Benedetto C, Bruno A, Bernasconi E. Infection du site chirurgical : facteurs de risque, prévention, diagnostic et traitement. *Rev Med Suisse* 2013 ; 9 : 1832-9.
 20. Golzarri MF, Hernaiz-Leonardo JC, Ostrosky M, Velazquez-Acosta C, Cornejo-Juarez P, Vilar-Compte D. Microbiology of Surgical Site Infections in Cancer Patients: A Seven Year Review. *Open Forum Infect Dis.* 2015;2(362).
 21. Chevalier B, Salaou C, Fall R, Farthouat P, Deconninck JP, Ougoubemy M et al. Surveillance des infections du site opératoire dans les services chirurgicaux de l'Hôpital Principal de Dakar. XIème Actualités du Pharo, Marseille 9-11 2004, CA 66.
 22. Bentley KC, Head TW, Aiello GA. Antibiotic prophylaxis in orthognathic surgery: A 1-day versus 5-day regimen. *J Oral Maxillofac Surg.* 1999;57(3):226-30.
 23. Chow LK, Singh B, Chiu WK, Samman N. Prevalence of Postoperative Complications After Orthognathic Surgery: A 15-Year Review. *J Oral Maxillofac Surg.* 2007;65(5):984-92.
 24. Circulaire DGS/VS/VS2 - DH/E01 - n°17 du 19 avril 1995 relative à la lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements de santé publics ou privés participant à l'exécution du service public.
 25. Martin C, Auboyer C, Boisson M, Dupont H, Gauzit R, Kitzis M, et al. Antibioprophylaxis in surgery and interventional medicine (adult patients). *Update* 2017. *Anaesth Crit Care Pain Med.* 2019;38(5):549-62.

ARTICLE ORIGINAL

Apport du FilmArray[®] dans le diagnostic d'un purpura fulminans à *Neisseria meningitidis*

Contribution of the FilmArray[®] in the diagnosis of a purpura fulminans due to *Neisseria meningitidis*

Ouafa Kallala^{1,2,3}
 Lamia Tilouche^{2,3}
 Houda Ajmi^{4,5}
 Safouane Kacem^{2,3}
 Sameh Bougattas^{2,3}
 Farah Azzouzi^{2,5}
 Saoussen Kacem^{1,2,3}
 Imene Fodha^{1,2,3}
 Soumaya Ketata^{2,3}
 Cherifa Chaouch^{2,3}
 Nouredine Boujaafar^{2,3}
 Olf Bouallegue^{2,5}
 Saoussen Abroug^{4,5}
 Abdelhalim Trabelsi^{1,3}

1 Laboratoire de recherche
 "Epidémiologie et immunogéné-
 tique des infections virales"
 (LR14SP02), Hôpital universitaire
 Sahloul, Université de Sousse,
 Sousse, Tunisie.

2 Laboratoire de microbiologie,
 Hôpital universitaire Sahloul,
 Sousse, Tunisie.

3 Faculté de pharmacie de Monastir,
 Monastir, Tunisie.

4 Service de pédiatrie, Hôpital
 universitaire Sahloul, Sousse,
 Tunisie.

5 Faculté de médecine de Sousse,
 Sousse, Tunisie.

Résumé

La précocité du diagnostic et de la prise en charge thérapeutique de la méningite et de l'encéphalite infectieuses M/E sont essentielles pour réduire leur morbi-mortalité. Classiquement, le diagnostic des méningites bactériennes est basé sur l'examen cyto-bactériologique du liquide céphalo-rachidien (LCR) et sa mise en culture afin d'isoler l'éventuelle souche bactérienne et d'étudier sa sensibilité aux antibiotiques. Cette méthode conventionnelle nécessite souvent plusieurs jours avant de rendre un résultat définitif au clinicien. Eventuellement la recherche des antigènes solubles et des techniques moléculaires classiques peuvent être réalisées. Ces méthodes peuvent manquer de sensibilité ou de spécificité. Le Panel FilmArray[®] Méningite / Encéphalite est un test de diagnostic *in vitro* multiplexé pour la détection simultanée et rapide (1 heure) de 14 agents pathogènes (7 virus, 6 bactéries et une levure) directement à partir d'échantillons de LCR. Nous rapportons ici une présentation d'un purpura fulminans méningococcique chez un enfant de 4 ans dont le diagnostic a été posé dans sa phase précoce grâce au FilmArray[®].

Mots clés : liquide céphalo-rachidien, infections du système nerveux central, diagnostic moléculaire multiplex, purpura fulminans, méningite, *Neisseria meningitidis*, approche syndromique

Abstract

Early diagnosis and therapeutic management of infectious meningitis and encephalitis M/E are essential to reduce their morbidity and mortality. Conventionally, the diagnosis of bacterial meningitis is based on the cyto-bacteriological examination of the cerebrospinal fluid (CSF) and its culture in order to isolate the possible bacterial strain and to study its sensitivity to antibiotics. These conventional methods often require several days before rendering a final result to the clinician. Possibly the search for soluble antigens and molecular techniques can be carried out. These methods may lack sensitivity or specificity. The FilmArray[®]. Meningitis-Encephalitis Panel is a multiplexed *in vitro* diagnostic test for the simultaneous and rapid detection (1 hour) of 14 pathogens (7 viruses, 6 bacteria and 1 yeast) directly from CSF samples.

We report here a presentation of meningococcal purpura fulminans in a 4-year-old child, diagnosed, in the early stages, with FilmArray[®].

Keywords : cerebrospinal fluid, central nervous system infection, molecular diagnostics, Multiplex Polymerase Chain Reaction, purpura fulminans, meningitis, *Neisseria meningitidis*, syndromic approach.

Introduction

La méningite et l'encéphalite M/E sont des situations d'urgence qui mettent en jeu le pronostic vital du patient et peuvent engendrer des séquelles au niveau du système nerveux central (1,2). Le large éventail de microorganismes qui peuvent être responsables de ces infections rend leur prise en charge thérapeutique complexe car elle doit inclure un traitement antibactérien et/ou antiviral adéquat dont la mise en route doit être la plus précoce possible (3). Classiquement, le diagnostic des méningites bactériennes est basé sur l'examen cytotabériologique du liquide céphalo-rachidien et sa mise en culture afin d'isoler l'éventuelle souche bactérienne et d'étudier sa sensibilité aux antibiotiques. Cette méthode conventionnelle nécessite souvent plusieurs jours avant de rendre un résultat définitif au clinicien prenant en charge le patient ce qui conduit souvent à une utilisation prolongée d'antimicrobiens à large spectre, à une prolongation de la durée d'hospitalisation et par conséquent à une augmentation des coûts des soins de santé. Par ailleurs, il est souvent difficile de poser le diagnostic étiologique de (M / E) en se basant uniquement sur la présentation clinique parfois non spécifique (4). Récemment, des outils moléculaires permettant une approche syndromique du diagnostic M / E ont été mis sur le marché. Les résultats étant disponibles en 1 heure environ, ces approches sont d'un grand intérêt malgré leurs coûts élevés, car elles permettent d'améliorer la prise en charge thérapeutique des M/E (5) Nous rapportons ici une présentation d'un purpura fulminans méningococcique chez un enfant dont le diagnostic biologique de confirmation a été posé au cours de la phase précoce grâce au FilmArray®.

Présentation du cas

Il s'agissait d'un enfant de 4 ans de sexe masculin ramené aux urgences pédiatriques du centre hospitalo-universitaire (CHU) Sahloul de Sousse le 05/04/2020 pour un état de mal convulsif survenu après l'installation d'une fièvre à 40°C et des frissons. Son pédiatre de ville lui avait prescrit trois jours auparavant de l'amoxicilline pour traiter une angine érythémateuse. A l'admission, l'examen clinique retrouvait un enfant somnolent aux extrémités froides, une fréquence cardiaque à 135 battements/min, une fréquence respiratoire à 40 cycles/min, une saturation en oxygène à 97 % en air ambiant, une tension artérielle à 70/40 mmHg et une température à 38,9°C. L'auscultation cardio-pulmonaire était sans anomalies. Il n'y avait pas d'hépto-splénomégalie. On notait la présence d'une petite tâche purpurique d'aspect nécrotique au niveau de la région périnéale de 3 millimètre de diamètre et de quelques tâches purpuriques ayant le même aspect au niveau des fesses. Devant ce

tableau clinique, un purpura fulminans a été suspecté et l'enfant a été mis sous Noradrénaline et Céfotaxime en intraveineux et a eu un remplissage par sérum physiologique. La tomodensitométrie (TDM) cérébrale effectuée après l'amélioration de l'état hémodynamique était sans anomalies et une ponction lombaire (PL) avait été pratiquée. L'étude cytotabériologique du liquide céphalo-rachidien (LCR) montrait des leucocytes à 700 éléments/mm³ et des hématies à 100 éléments/mm³. La formule leucocytaire était panachée avec des polynucléaires neutrophiles à 55% et des lymphocytes à 45%. L'étude biochimique révélait une protéinorachie de 0,3 g/L et une glycorachie de 3,4 mmol/L avec un rapport glycorachie/glycémie de 0,47. L'examen direct d'un frottis coloré au Gram était négatif. Le reste du bilan biologique ne révélait aucune anomalie particulière à l'exception d'une hémoglobine à 10,2 g/dL et d'un taux de prothrombine à 47 %. Etant donné la persistance des troubles de la conscience, l'enfant a été mis par la suite sous céfotaxime à dose méningée, vancomycine et aciclovir craignant une atteinte associée du système nerveux central.

L'évolution était marquée par une amélioration de l'état hémodynamique et de l'état de conscience. En revanche, sur le plan cutané, on a remarqué l'apparition le lendemain de l'admission de lésions cutanées purpuriques nécrotiques étendues au niveau de l'abdomen du cou et des bras. Le résultat d'une nouvelle NFS montrait une hémoglobine à 9,6 g/dL, un taux de leucocytes égal à 29360/mm³ ; PNN = 880 éléments /mm³ ; 264 mg/L. La recherche du génome du virus herpès simplex 1 dans le LCR avait été adressée au laboratoire de microbiologie du CHU Sahloul. Toutefois, devant l'urgence du tableau clinique, biologique et après discussion avec le pédiatre prenant en charge le patient, une PCR multiplex (Le panel FilmArray® Méningite / Encéphalite (FA-M / E) (BioFire Diagnostics, bioMerieux, Salt Lake City, UT) a été pratiquée. Cette dernière a permis la détection du génome de *Neisseria meningitidis*. Le reste du panel était négatif. Le diagnostic de purpura fulminans à *Neisseria meningitidis* a été alors confirmé. Le même jour, la recherche des antigènes solubles méningococciques et pneumococciques urinaires et au niveau du LCR était négative.

D'un autre côté, la culture bactérienne du LCR sur Gélose au sang cuit additionnée d'Isovitalex® incubée sous 5% de CO₂ était restée négative au bout de 5 jours. Le traitement par Vancomycine et Aciclovir a donc été arrêté avec maintien du Céfotaxime à dose méningée et la guérison du patient a été obtenue après une durée totale d'antibiothérapie de 10 jours.

Discussion

Les infections invasives à méningocoque (IIM) constituent un important problème de santé publique essentiellement chez les enfants partout dans le monde (6). *Neisseria meningitidis*, un diplocoque à Gram négatif aérobic strict est une bactérie de la flore normale du nasopharynx, totalement inféodée à l'être humain. Le taux de portage chez les enfants d'âge inférieur à 4 ans est <1% (7). Dans de très rares cas, le méningocoque traverse l'épithélium du pharynx et se retrouve dans la circulation sanguine. Comme d'autres pathogènes extracellulaires, cette bactérie possède une capsule polysaccharidique et exprime plusieurs facteurs de virulence qui la protègent de l'action bactéricide du complément et qui limitent sa phagocytose (8). Les IIM peuvent se présenter sous différentes formes cliniques dont la plus commune est la méningite méningococcique. En Tunisie, depuis l'introduction en 2002 du vaccin anti-Hib dans le calendrier vaccinal national, *Neisseria meningitidis* est devenue la deuxième étiologie de méningites bactériennes communautaires chez l'enfant (9).

La complication la plus redoutable de l'infection est le développement d'un syndrome de purpura fulminans (PF), beaucoup moins fréquent. Il associe un choc septique très sévère à des nécroses cutanées extensives, touchant notamment les membres, et qui nécessitent souvent d'avoir recours à une chirurgie « délabrante » allant jusqu'à l'amputation (8). Cette entité clinique constitue ainsi une urgence thérapeutique par excellence et aucun retard ne serait permis car son évolution est souvent fatale (10).

Notre observation constitue une forme débutante d'un purpura fulminans car le jour de l'admission seulement quelques tâches purpuriques d'aspect nécrotique étaient localisées au niveau de la région périnéale. L'apparition de lésion cutanées purpuriques nécrotiques étendues au niveau de l'abdomen, du cou et des bras n'avaient été constatées que 24h après. La rapidité de la prise en charge de cette entité est conditionnée par un diagnostic microbiologique précoce et fiable. C'est dans ce genre de contextes cliniques que le recours panel (FA-M / E) est particulièrement indiqué. Il s'agit du premier test approuvé par l'administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments « *Food and Drug Administration* » (octobre 2015) permettant la détection simultanée de 14 agents pathogènes capables de provoquer des méningites ou encéphalites communautaires : *Escherichia coli* K1, *Haemophilus influenzae*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pneumoniae*, Cytomégalovirus (CMV), Entérovirus, Herpès simplex virus 1 (HSV-1), Herpès simplex virus 2 (HSV-2), Virus de l'herpès humain de type 6 (VHH-6), Paréchovirus humain, Le

virus varicelle-zona et *Cryptococcus neoformans/gattii*. Le panel FA-M / E nécessite 200 µl de liquide céphalo-rachidien (LCR). Le processus de test comprend une étape d'extraction / purification d'acide nucléique, un premier cycle d'amplification hautement multiplexée de toutes les cibles, suivi d'une amplification imbriquée de chaque cible effectuée sur le réseau en triple. Le système FilmArray interprète automatiquement les trois résultats obtenus comme trois courbes de fusion indépendantes pour donner un résultat final unique. Malgré une technologie miniaturisée de haut niveau, l'utilisation du système ne nécessite aucune compétence spécifique en méthodes moléculaires mais requiert des précautions microbiologiques de sécurité (11). Le temps de manipulation et le délai de réponse rapportés par le fabricant sont respectivement de 2 minutes et 1 heure.

Conformément aux études précédentes, le délai médian du diagnostic, du prélèvement au rendu du résultat, est inférieur à 2 heures (2). Ce délai de diagnostic plus rapide que les méthodes conventionnelles permet un ajustement thérapeutique précoce.

Eichinger et al. ont souligné dans leur travail sur l'utilisation du panel (FA-M / E) chez les enfants chez qui une méningite a été suspectée que la disponibilité de tests de diagnostic rapide permet l'administration d'un traitement antimicrobien spécifique et réduit ainsi la prescription inadéquate des antibiotiques (12). D'un autre côté, Hagen et al. ont comparé rétrospectivement les données sur l'utilisation empirique d'antibiotiques et d'acyclovir chez des patients hospitalisés au service de pédiatrie soupçonnés d'infection du système nerveux central (SNC) et qui ont bénéficié du test (FA-M / E) et un groupe témoin historique correspondant. Leurs résultats suggèrent que l'introduction d'un panel FA-M / E dans les procédures de routine clinique était associée à une réduction significative de la durée du traitement anti-infectieux empirique. L'effet le plus important a été observé chez les nourrissons qui présentent souvent des symptômes non spécifiques. Ce résultat a été confirmé par d'autres études (13–15). En effet, la confirmation ou l'exclusion de la présence de germes peut permettre donc de réduire la survenue éventuelle de complications liées au traitement et les coûts de soins de santé. En effet, même l'absence de détection de germe par ce panel peut être intéressante puisque la valeur prédictive négative élevée a été soulignée par des travaux antérieurs (16,17). Au contraire une étude menée par Dack et al. a suggéré qu'il n'y avait pas de différence entre la durée du séjour ou la durée d'utilisation des antibiotiques dans les cas présumés de méningite évalués avec des méthodes traditionnelles par rapport au panel FA M/E(18) et a souligné que ce test ne pouvait pas non plus fournir d'informations sur la sensibilité aux antibiotiques(15).

Selon Yair et al. l'utilisation de FA-M / E offre des avantages significatifs dans la gestion de la méningite bactérienne communautaire traitée préalablement, en raccourcissant la durée du traitement antibiotique empirique et en accélérant la mise en route d'une antibiothérapie adaptée à spectre étroit (12). De plus, la détection rapide de *N. meningitidis* permet la mise en œuvre rapide du protocole d'antibioprophylaxie chez les sujets contacts. Cette dernière pourra être complétée par la vaccination comme mentionné dans des travaux antérieurs (12,17). Une des raisons de l'échec de la culture conventionnelle est l'administration d'antibiotiques avant la réalisation de la ponction lombaire (19) tel était le cas dans notre observation puisque notre patient avait déjà pris de l'amoxicilline pour une angine érythémateuse avant son hospitalisation. Ce type de résultats a été trouvé pour d'autres germes tel que pour *E. coli* et *S. pneumoniae* (17). Le méningocoque était habituellement sensible aux bêta-lactamines. Cependant, l'événement majeur de ces trente-cinq dernières années est le développement de la résistance aux bêta-lactamines dont le mécanisme le plus fréquent est une diminution d'affinité de la PLP-2 entraînant une diminution de la sensibilité à la pénicilline G et aux aminopénicillines. Les céphalosporines de troisième génération restent actives (20). Peu de données sont disponibles en Tunisie quant à la sensibilité des souches de *Neisseria meningitidis* aux antibiotiques. Une étude réalisée à l'hôpital d'enfants de Tunis sur une période de 15 ans avait montré qu'une sensibilité réduite à la pénicilline G avait été observée dans 55,7 % des isolats, avec un bas niveau de résistance pour tous les cas et que 28,4 % des isolats avaient un bas niveau de résistance à l'amoxicilline. Cette même étude avait montré que le séro-groupe B était le plus fréquent chez les enfants (80,4%), suivi du séro-groupe C (12,2%) et séro-groupe A (5,6%). Deux isolats (1,8%) appartenaient au séro-groupe Y (9). Lorsqu'on sait que la négativation de la culture du LCR, après une injection de 50 mg/kg de céfotaxime, est de 15 minutes à deux heures pour le méningocoque, l'intérêt du diagnostic moléculaire prend alors toute son importance pour notre cas, la prise antérieure d'antibiotique a eu des répercussions également sur la formule leucocytaire. En effet, outre la classique méningite à *Listeria*, une formule panachée peut être observée lors d'une antibiothérapie préalable inadéquate ou insuffisante (méningite décapitée) (21). La sensibilité de l'examen direct est liée à l'espèce bactérienne, ainsi qu'à la charge bactérienne présente dans l'échantillon qui peut être considérablement réduite en cas de prise d'antibiotique. En effet, en cas de traitement précoce, la sensibilité de l'examen direct est généralement comprise entre 40 et 60 %, voire moins. Dans le cas particulier du méningocoque, la lecture du frottis doit être très attentive car les bactéries peuvent être rares ou prendre un aspect peu

typique (morphologie altérée par l'antibiothérapie) (22). La recherche des antigènes solubles était par ailleurs négative dans notre observation. En dehors de l'aide apportée à l'observation de formes atypiques à l'examen direct, la détection d'antigènes solubles est précieuse lorsqu'une antibiothérapie est déjà instaurée, inhibant la culture. La sensibilité de cet examen est cependant assez faible : lorsqu'on n'observe pas de bactéries à l'examen direct, la recherche d'antigènes solubles est très souvent négative, du moins avec les réactifs usuels, basés sur l'agglutination de particules de latex sensibilisées. Les variations importantes entre les différentes études évaluant la valeur de ce test dans le diagnostic des méningites bactériennes s'expliquent en partie par l'utilisation de kits différents, par des contextes cliniques variables (études regroupant des cas sporadiques, ou études sur des épidémies avec des germes ciblés) et sur des populations étudiées parfois très différentes (21). Pour le méningocoque, une revue bibliographique avait montré que les performances des réactifs agglutinants est variable selon le séro-groupe en cause. Les résultats cumulés de 8 publications ont montré que pour le groupe B, le plus incriminé dans les méningites méningococques infantiles en Tunisie, les résultats sont très décevants puisque la sensibilité ne dépassait pas 55,3% versus 91,6% et 72,8% pour le groupe A et C respectivement. (23). Il y a également des problèmes de spécificité, le plus connu étant la communauté antigénique du groupe B avec *Escherichia coli* K1, responsable de méningites néonatales. Pour ces raisons, cette technique a été déconseillée par de nombreux auteurs (24).

Ainsi, un des principaux avantages de l'approche syndromique est la détection d'agents pathogènes qui auraient été manqués par des tests de routine basés sur l'absence de suspicion clinique comme observé dans une étude réalisée à Montpellier sur une période de 13 mois où le panel a permis la détection de 5 cas de méningite bactérienne non diagnostiqués par culture correspondant à 6% des diagnostics globaux et 29% des diagnostics de méningite bactérienne (2).

Un nombre de plus en plus élevé de résultats positifs par le panel FA-M / E a été décrit précédemment, en particulier dans l'étude de Leber et al. montrant un rendement diagnostique supplémentaire de 15,5% (25) et dans des études réexaminant le LCR avec des résultats négatifs par d'autres méthodes ont montré que 20-23% des patients avaient un test FA-M / E positif (26,27). Une sensibilité plus élevée de la méthode, basée sur une amplification niché (26) ainsi que la détection d'agents pathogènes après le début du traitement antimicrobien (27) pourrait expliquer cette augmentation du rendement diagnostique.

D'un autre côté, des résultats faussement positifs ont été décrits précédemment, représentant jusqu'à 25% de la

totalité des résultats positifs (16). D'où l'importance de corréler les résultats avec les données cliniques et autres données biologiques. En ce qui concerne la contamination potentielle, des mesures cliniques et de laboratoire pour atténuer les résultats faussement positifs ont été proposées. La collecte et la manipulation des échantillons de LCR doivent éviter toute contamination par le microbiote oropharyngé dont l'amplification pourrait conduire à des résultats faussement positifs qui peuvent à leur tour retarder le diagnostic microbiologique de certitude. Quant aux résultats invalides ou inhibés (même pour les échantillons de LCR teintés de sang), ils sont rares voire inexistantes (2).

Plusieurs études ont rapporté des faux positifs et faux négatifs avec ce test, et tous se rejoignent sur le coût important. Les systèmes de soins de santé ont adopté différentes stratégies pour offrir ce test. Certains ont mis en œuvre des stratégies pour limiter l'utilisation du test à certaines populations de patients et d'autres ont choisi de ne pas proposer le test et demandent à la place que les prestataires commandent des PCR spécifiques pour les agents pathogènes qui correspondent le mieux aux symptômes du patient. La décision de mise en œuvre de ce type de test est, jusqu'à aujourd'hui, individualisée en fonction des besoins de la population de patients, des capacités du laboratoire et des connaissances des prestataires de soins de santé qui utilisent le test (7, 28).

Cependant, la population de patients la plus appropriée pour les tests avec le panel FA-M / E est un sujet de débat (2,29,30). Au niveau du laboratoire de microbiologie du CHU Sahloul, depuis sa mise en place en février 2019, l'automate FILMARRAY® de BIOFIRE® a permis de détecter dans la majorité des cas des virus sur 11 prélèvements différents (Entérovirus seul ou associé au

HSV-1, HSV-2, VZV, HHV-6) et qui ont été confirmés par une PCR monoplexe. Pour les bactéries, on n'a retrouvé que *Neisseria meningitidis* qui est présenté dans ce travail. Le total d'analyses réalisées étant de 36. La moyenne d'âge était de 17,25 ans avec des extrêmes de 20 jours à 63 ans. Des études prospectives sont nécessaires pour définir la stratégie d'utilisation du panel dans notre laboratoire et la population de patients la plus appropriée pour les tests avec le panel FA-M / E .

Conclusion

Le purpura fulminans représente la forme la plus grave des IIM, avec un taux de mortalité qui reste très élevé chez l'enfant. Dès la présomption du diagnostic, une antibiothérapie probabiliste urgente doit être immédiatement instaurée en raison du risque majeur d'évolution fatale des purpuras méningococciques. La rapidité de la mise en route d'une antibiothérapie spécifique efficace est conditionnée par la précocité d'un diagnostic microbiologique fiable. Le panel (FA-M/E) a fait ses preuves en matière du raccourcissement du délai de rendu des résultats et de la réduction de la durée d'hospitalisation. Etant donné son coût qui demeure relativement conséquent, chaque laboratoire devra sélectionner la population cible et les contextes cliniques pour lesquels ce test sera réalisé de façon parallèle aux méthodes conventionnelles du diagnostic microbiologique. Ces dernières et particulièrement la culture demeurent impératives car c'est le seul moyen de caractériser les souches circulantes en déterminant leur sérotypes ce qui permet la mise au point des vaccins. Elle permet également de réaliser l'antibiogramme pour les souches isolées ce qui constitue un élément essentiel à la surveillance de la résistance aux antibiotiques.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Dodge PR, Swartz MN. Bacterial meningitis—a review of selected aspects. Ii. Special neurologic problems, postmeningitic complications and clinicopathological correlations. *N Engl J Med* 1965;272:1003–1003.
2. Boudet A, Pantel A, Carles M-J, Boclé H, Charachon S, Enault C, et al. A review of a 13-month period of FilmArray Meningitis/Encephalitis panel implementation as a first-line diagnosis tool at a university hospital. *PloS One* 2019;14(10):e0223887.
3. Martin NG, Iro MA, Sadarangani M, Goldacre R, Pollard AJ, Goldacre MJ. Hospital admissions for viral meningitis in children in England over five decades: a population-based observational study. *Lancet Infect Dis* 2016;16(11):1279–1287.
4. Ku LC, Boggess KA, Cohen-Wolkowicz M. Bacterial Meningitis in the Infant. *Clin Perinatol* 2015;42(1):29–45.
5. Chang D, Okulicz JF, Nielsen LE, White BK. A Tertiary Care Center's Experience with Novel Molecular Meningitis/Encephalitis Diagnostics and Implementation with Antimicrobial Stewardship. *Mil Med* 2018;183(1–2):e24–7.
6. Khaled M, Asma H, Ammar K, Asma B, Kalthoum K, Sarra BH, et al. [Management of Purpura Fulminans Apropos of 21 Cases: Diagnostic Delay and Therapeutic Problems]. *Tunis Med* 2007;85(5):371-375.
7. Caugant DA, Tzanakaki G, Kriz P. Lessons from meningococcal carriage studies. *FEMS Microbiol Rev* 2007;31(1):52–63.

8. Lécuyer H, Nassif X, Coureuil M. Le purpura fulminans méningococcique, une énigme partiellement résolue. *médecine/sciences* 2018;34(12):1038–1041.
9. Saguer A, Smaoui H, Taha MK, Kechrid A. Characterization of invasive *Neisseria meningitidis* strains isolated at the Children's Hospital of Tunis, Tunisia. *EMHJ-East Mediterr Health J* 2016;22(5):343–349.
10. Tourdias D, Lassarade-Maisonave F, Murcott O. Purpura fulminans méningococcique. *Ann Fr Médecine Urgence* 2016;6(2):124–128.
11. Bârnès GK, Gudina EK, Berhane M, Abdissa A, Tesfaw G, Abebe G, et al. New molecular tools for meningitis diagnostics in Ethiopia - a necessary step towards improving antimicrobial prescription. *BMC Infect Dis* 2018;18(1):684.
12. Anna E, Alexandra H, Melanie M-B, Johannes H. Clinical Benefits of Introducing Real-Time Multiplex PCR for Cerebrospinal Fluid as Routine Diagnostic at a Tertiary Care Pediatric Center. *Infection* 2019;47(1):51-58
13. Hagen A, Eichinger A, Meyer-Buehn M, Schober T, Huebner J. Comparison of antibiotic and acyclovir usage before and after the implementation of an on-site FilmArray meningitis/encephalitis panel in an academic tertiary pediatric hospital: a retrospective observational study. *BMC Pediatr* 2020; 20: 56.
14. Messacar K, Breazeale G, Robinson CC, Dominguez SR. Potential Clinical Impact of The Filmarray Meningitis Encephalitis Panel In Children With Suspected Central Nervous System Infections. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2016;86(1):118–120.
15. Du B, Hua C, Xia Y, Li J, Xie Y, Tao Y, et al. Evaluation of the BioFire FilmArray meningitis/encephalitis panel for the detection of bacteria and yeast in Chinese children. *Ann Transl Med* 2019; 7(18): 437.
16. Naccache SN, Lustestica M, Fahit M, Mestas J, Dien Bard J. One Year in the Life of a Rapid Syndromic Panel for Meningitis/Encephalitis: a Pediatric Tertiary Care Facility's Experience. *J Clin Microbiol* 2018; 56(5): e01940-17
17. Pfefferle S, Christner M, Aepfelbacher M, Lütgehetmann M, Rohde H. Implementation of the FilmArray ME panel in laboratory routine using a simple sample selection strategy for diagnosis of meningitis and encephalitis. *BMC Infect Dis* 2020; 20:170.
18. Dack K, Pankow S, Ablah E, Zackula R, Assi M. Contribution of the BioFire® FilmArray® Meningitis/Encephalitis Panel: Assessing Antimicrobial Duration and Length of Stay. *Kans J Med* 2019;12(1):1–3.
19. Brouwer MC, Tunkel AR, van de Beek D. Epidemiology, Diagnosis, and Antimicrobial Treatment of Acute Bacterial Meningitis. *Clin Microbiol Rev* 2010;23(3):467–492.
20. Stahl J-P. Méningites aiguës. *J Eur Urgences Réanimation* 2012;24(4):207–220.
21. H VT. [Contribution of microbiological methods to the diagnosis of acute bacterial meningitis]. *Med Mal Infect* 2009;39(7–8):462–467.
22. Jarvis CW, Saxena KM. Does Prior Antibiotic Treatment Hamper the Diagnosis of Acute Bacterial Meningitis?: An Analysis of a Series of 135 Childhood Cases. *Clin Pediatr (Phila)* 1972;11(4):201-204.
23. Denis F, Mounier M. Le diagnostic rapide des méningites cérébrospinales: Techniques, Resultats, Limites Et Perspectives. *Médecine et maladies infectieuses* 1984;14 (1):27-36.
24. Gaillot O, Nassif X. in *Rémic - référentiel en microbiologie médicale* 539–543
25. L Leber A, Everhart K, Balada-Llasat J-M, Cullison J, Daly J, Holt S, et al. Multicenter Evaluation of BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel for Detection of Bacteria, Viruses, and Yeast in Cerebrospinal Fluid Specimens. *J Clin Microbiol* 2016;54(9):2251-2261.
26. Wootton SH, Aguilera E, Salazar L, Hemmert AC, Hasbun R. Enhancing pathogen identification in patients with meningitis and a negative Gram stain using the BioFire FilmArray® Meningitis/Encephalitis panel. *Ann Clin Microbiol Antimicrob* 2016; 15: 26.
27. Launes C, Casas-Alba D, Fortuny C, Valero-Rello A, Cabrerizo M, Muñoz-Almagro C. Utility of FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel during Outbreak of Brainstem Encephalitis Caused by Enterovirus in Catalonia in 2016. *J Clin Microbiol* 2017;55(1):336–338.
28. Tansarli GS, Chapin KC. Diagnostic test accuracy of the BioFire® FilmArray® meningitis/encephalitis panel: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect* 2020;26(3):281-290.
29. Dien Bard J, Alby K. Point-Counterpoint: Meningitis/Encephalitis Syndromic Testing in the Clinical Laboratory. *J Clin Microbiol.* 2018 ; 56(4):e00018-18.
30. Hanson KE. The First Fully Automated Molecular Diagnostic Panel for Meningitis and Encephalitis: How Well Does It Perform, and When Should It Be Used?. *J Clin Microbiol* 2016;54(9):2222–2224.

Recommandations de la commission de standardisation des marqueurs sériques maternels

Président de la STBC

Pr Taieb Messaoud

Coordinatrice de la commission

Pr Ghaya Merdassi

Membres

Pr Chakib Mazigh

Pr Sélima Ferchichi

Pr Olfa Bahri

Dr Elyes Slim Ghedira

Dr Nejib Barouni

Dr Wadie Khrouf

Dr Haitham Jguirim

Dr Hamdi Dhaouadi

Dr Anis Ben Amor

Dr Noomen Battita

PREAMBULE

Ce document vise à apporter aux confrères biologistes médicaux exerçant en Tunisie les outils scientifiques et pratiques nécessaires pour une harmonisation de la pratique du dépistage de la Trisomie 21 (T21) au niveau national.

L'objectif est de pallier tant que possible à la discordance inter-laboratoires et inter-solutions des résultats fournis, pour permettre au clinicien d'adopter une démarche décisionnelle claire auprès de la patiente.

Ce document qui résulte d'une démarche interdisciplinaire vise une standardisation globale pour la réalisation d'un guide de bonnes pratiques commun aux biologistes et échographistes;

Méthode de travail

La méthode de travail s'est fondée sur la revue systématique et critique de la littérature référencée dans les bases de données bibliographiques.

Un groupe de travail pluridisciplinaire composé de 11 experts s'est réuni à cinq reprises pour proposer des conclusions et des recommandations à partir de la revue de la littérature.

L'état des lieux a été réalisé à partir du sondage fait par l'ULB en Mai 2017 auprès des laboratoires tunisiens pratiquant le dépistage de la Trisomie 21.

Les points abordés et les recommandations de ce document sont synthétisés à partir :

- des recommandations actualisées des différentes sociétés savantes internationales, principalement la FMF (fetal medicine foundation) et l'ABAT21 (Association des biologistes agréés pour le dépistage de la T21, France), mais aussi le NHS (National Health Service, UK) et la HAS (Haute autorité de Santé, France) ;

- des différents articles de la bibliographie.

Les biologistes tunisiens sont vivement invités à suivre ces recommandations.

Par ailleurs, ce groupe de travail souligne l'importance de la qualité de communication entre biologistes et cliniciens pour la bonne exécution du dépistage de la T21.

RAPPEL SUR LE PRINCIPE DU DEPISTAGE DE LA TRISOMIE 21

A partir des années 1980, la découverte de différents marqueurs sériques maternels (MSM) de dépistage de la T21 et l'identification de signes échographiques ont permis l'élaboration de stratégies de dépistage prénatal.

Pour le biologiste, les marqueurs à doser sont :

- au 1er Trimestre : b-HCG fraction beta libre (FBCG) + PAPP-A

- au 2eme Trimestre : b-HCG (soit totale HCG, soit fraction beta libre FBCG) + au moins un marqueur parmi les suivants (AFP, oestriol non conjugué libre UE3, inhibine-A INHA).

Ces marqueurs ne sont pas interprétés en fonction d'un intervalle de valeurs usuelles, mais en fonction de la médiane de distribution au jour du terme de la date de prélèvement de la patiente.

Les multiples de la médiane (MOM) de chaque marqueur sont édités grâce à un logiciel dédié. Ces MOM sont convertis par le logiciel en Likelihood ratio (LR)

unique sur la base de la distribution de chaque marqueur entre une population de femmes enceintes témoins et une population de femmes enceintes avec fœtus T21.

Le coefficient de variation et la reproductibilité analytique inter-laboratoires de chaque analyse est ici un facteur déterminant pour la validité de l'équation générant le LR. Ainsi, le logiciel calcule le risque final qui tient à la fois de l'âge maternel, des données échographiques et des marqueurs sériques.

Si la patiente a un risque supérieur à un certain seuil (1/250) elle se voit orientée vers l'étape diagnostique, à savoir le prélèvement fœtal invasif (amniocentèse ou biopsie de trophoblaste) et l'analyse cytogénétique.

Les actes échographiques et biologiques sont donc complémentaires dans la réalisation du dépistage combiné. Grâce à cet outil, il est rapporté dans la littérature pour le dépistage combiné une sensibilité autour de 85-90% (90% des fœtus Trisomiques sont dépistés positifs) pour un taux de positivité de 5% de la totalité des patientes dépistées. La valeur prédictive positive du dépistage combiné au 1er trimestre est de 1/25 environ (Wright D, 2013).

Ces performances sont tributaires de la qualité de leur exécution et la rigueur continue des praticiens responsables de leur validation.

En conséquence, il est nécessaire d'assurer l'amélioration de la qualité et la standardisation des pratiques en incitant les praticiens concernés à adhérer à un programme d'assurance qualité, voire comme certains pays en établissant des agréments par les autorités compétentes. Il y a actuellement 4 solutions majeures commercialisées internationalement pour les biologistes pour le dépistage de la T21 : Thermo Fisher Brahms Kryptor, Siemens Immulite, Perkin Elmer Delfia et Roche Cobas. Elles comprennent chacune un automate d'immuno-analyse et un logiciel de calcul de risque dédié.

En Tunisie, le dépistage de la T21 a été proposé pour la première fois en 1996 au laboratoire de Biochimie de l'hôpital Farhat Hached Sousse (Pr Miled).

Il n'y a pour le moment pas de textes juridiques ou de recommandations scientifiques nationales encadrant cette activité qui allie les compétences d'un échographe et d'un biologiste, d'où les discordances observées entre les conclusions échographiques et les résultats biologiques.

RECOMMANDATIONS

1. PHASE PREANALYTIQUE

1.1. BON D'ANALYSE

Le bon d'analyse pour dépistage de la T21 doit absolument comporter les informations suivantes :

1. Identité du prescripteur
2. Identité complète de la patiente
3. Date de naissance (DDN) complète

Le risque lié à l'âge est jour dépendant. Une modification de quelques mois peut impacter le résultat fourni.

Dans le cas d'une grossesse issue d'une congélation d'ovocytes ou d'embryons dans le cadre d'une assistance médicale à la procréation (AMP), il faut saisir l'âge qu'avait la patiente au moment du début de la congélation.

4. Données nécessaires au calcul de risque de trisomie 21

4.1 Données concernant la patiente

4.1.1 Poids

Au jour du prélèvement (et non celui antérieur à la grossesse). Pour certains logiciels, la taille est nécessaire.

4.1.2 Ethnie

Caucasiennes / Africaines / Asiatiques

Les différentes solutions de dépistage de la T21 ont édité les médianes des marqueurs sériques sur une large population de caucasiennes (population de patientes d'Europe de l'ouest et du sud) puis apporté des facteurs de correction.

Les fabricants et aussi les autorités de santé comme la HAS préconisent que les patientes maghrébines (dont les tunisiennes) soient assimilées aux caucasiennes et non pas aux africaines (HAS, 2007 ; Poloce, 2010)

4.1.3 Tabac

A partir d'une seule cigarette par jour pendant les 15 derniers jours (Dancoine F, 2006)

4.1.4 Diabète

Il est important de préciser si le diabète est traité ou non traité

4.1.5 Prise d'acide folique

Il est important de préciser la prise éventuelle d'acide folique.

4.1.6 Grossesse naturelle ou issue d'un acte d'AMP

Les grossesses issues des actes d'AMP sont à préciser.

4.1.7 Antécédents de Trisomies et de grossesses arrêtées

Le terme « antécédent » vise uniquement les précédentes grossesses exclusives à la patiente.

Si la patiente a des parents (frères, sœurs, cousins, belle famille, ...) trisomiques à trisomie 21 libre (homogène ou en mosaïque), ceci n'affecte pas le résultat du dépistage.

Si la patiente a des parents trisomiques par translocation impliquant le chromosome 21, elle devra bénéficier d'un conseil génétique adéquat auprès de son prescripteur et d'un spécialiste en cytogénétique ou génétique, et ne pas se limiter au dépistage.

4.2. Données concernant l'échographie

4.2.1 Outils de datation de la grossesse : (Snijders RJ, 1998 ; Nicolaidis KH, 2004)

Date des dernières règles (DDR) réelle ou au mieux DDR échographique / longueur crânio-caudale (LCC) avec date d'échographie/ diamètre bipariétal (BIP) avec date d'échographie

La LCC est corrélée au terme de la grossesse (entre 45 et 84 mm selon la FMF). Au-dessus de 84mm, cette corrélation ne se fait plus pour la LCC, et c'est le diamètre bipariétal qui devient l'outil de biométrie fœtale le plus commun avec ultérieurement aussi la longueur du fémur et la circonférence crânienne.

Une discordance de terme affecte le risque calculé (**cf paragraphe 2.3.3**). On peut ainsi par erreur considérer une patiente au 1^{er} trimestre alors qu'en réalité elle est au 2nd trimestre.

Clarté Nucale (CN) : (Snijders RJ, 1998 ; Herman A, 1998 ; Nicolaidis KH, 2004)

La CN doit être mesurée selon les critères stricts en vigueur en échographie fœtale (Nicolaidis, 1998). Sa qualité de mesure et la validité de la valeur fournie relève de la responsabilité exclusive de l'échographiste et devra faire l'objet de normes tunisiennes par les sociétés savantes concernées qui veilleront à leur application rigoureuse.

La CN mesurée est valide uniquement si la patiente s'est présentée chez son gynécologue/échographiste avec un terme correspondant à une LCC entre 45 et 84 mm.

En effet, la CN ne doit être acceptée et intégrée dans le logiciel que pour des LCC entre 45 et 84 mm.

Les logiciels permettent pourtant d'intégrer des clartés nucales prises entre 38 et 44 mm, celles-ci sont jugées incorrectes selon les normes de la Fetal Medecine Foundation (FMF).

Os propre du Nez (OPN) (Nicolaidis KH, 2004), L'absence d'OPN est un critère échographique important car il augmente le risque d'un LR de 47.

Le biologiste doit veiller à identifier cette information sur la demande d'analyse si elle est fournie et à bien l'annoter dans le logiciel (présent / absent / inconnu).

Ce critère reste facultatif

4.2.2 Nombre de Fœtus et chorionicité en cas de gémeillarité (Madsen HN, 2011 ; Prats P, 2012 ; NHS, 2015)

Les grossesses avec plus de 2 fœtus ne sont pas éligibles au dépistage de la Trisomie 21.

Les grossesses gémeillaires bichoriales sont aussi bien éligibles au dépistage du 1^{er} trimestre que du 2^{ème} tri-

mestre, les différentes solutions ont intégré les facteurs de corrections relatives à ce cas de figure pour tous les marqueurs.

Ici chaque fœtus est traité comme une grossesse mono-fœtale. Le biologiste devra dans ses comptes rendus mentionner l'identification J (jumeau)1 et J2 ; en échographie, on parle de JA (jumeau à droite) et JB (jumeau à gauche).

Les grossesses gémeillaires monochoriales (qu'elles soient biamniotiques ou monoamniotiques) doivent par contre être traitées ensemble, le biologiste devra éditer un seul risque pour les deux fœtus, puisqu'à la base il s'agit d'un seul embryon qui s'est divisé par la suite. Nous sommes donc dans une configuration soit de deux fœtus sains, soit de deux fœtus avec risque élevé d'aneuploidies

Actuellement, la solution Siemens Prisca v5 ne permet pas de réaliser le dépistage pour les grossesses gémeillaires monochoriales car le logiciel ne prend pas en compte les médianes différentes des monochoriales par rapport aux bichoriales.

Par ailleurs, pour les utilisateurs des solutions Thermo Brahms et Roche, le prescripteur doit être informé des limites du dépistage de la T21 pour les grossesses monochoriales.

1.2. QUEL TERME LORS DU PRELEVEMENT

Différents paramètres peuvent définir le terme précis de la grossesse :

- DDR échographique
- LCC au 1^{er} trimestre
- BIP au 2^{ème} trimestre

La courbe de corrélation entre LCC et terme de grossesse a été établie par Robinson en 1975, cette courbe fixe une LCC à 45mm pour un terme à 11SA et une LCC à 84mm pour un terme à 13SA+6.

Cette courbe a été ajustée par la suite en 2008, et elle diffère de la précédente d'un (01) seul jour de décalage voir deux (02) jours quand la LCC > 80mm. Un 2eme ajustement a eu lieu en 2009, et il diffère désormais de la courbe de Robinson de deux (02) jours sur tout l'intervalle 45 – 84 mm (tableau 1).

Tableau 1 : Corrélation entre LLC et terme de grossesse

	Terme de grossesse (Robinson, 1975)	Terme de grossesse (Robinson modifié, 2008)	Terme de grossesse (Loughna, 2009)
LCC : 45mm	11SA	11SA+1	11SA+2
LCC : 84mm	13SA+6	14SA+1	14SA+1

La plupart des logiciels sont verrouillés pour ces courbes et souvent il n'est pas possible d'en choisir une en particulier parmi les autres.

Ceci peut être responsable d'une différence minime entre les résultats fournis par les différentes solutions. Le biologiste doit mentionner dans le compte rendu la méthode de corrélation LCC – terme utilisée pour que le prescripteur puisse prendre en considération ces différences minimales dans sa démarche décisionnelle.

1.3. QUEL TRIMESTRE LORS DU PRELEVEMENT ?

Les intervalles de termes définissant le 1^{er} et le 2^{ème}

trimestre sont annotés dans le tableau 2.

Les normes françaises délimitent clairement le 1^{er} et le 2^{ème} trimestre (1^{er} trimestre jusqu'à 13SA+6 et le 2^{ème} trimestre dès 14SA+0) (selon la courbe de Robinson 1975).

Pour la FMF il y a un chevauchement de un jour entre ce qui est défini par le 1^{er} trimestre et le 2^{ème} (à 14SA+0 on peut utiliser tout aussi bien les marqueurs du 1^{er} que ceux du 2^{ème} trimestre).

Tableau 2 : Intervalles de termes et définition des trimestres

	FMF (UK) Loughna, 2009	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé ANSM ABAT21 (FR) Robinson, 1975
1^{er} trimestre	LCC entre 45 et 82mm soit 11SA+2 – 14SA+0	LCC entre 45 et 84mm soit 11SA à 13SA+6
2^{ème} trimestre	à LCC 83-84 mm = 14SA+1 dès 14+0 jusqu'à 19+6 si on saisit un terme directement	dès 14SA+0

D'après les dernières recommandations de l'Association des Biologistes agréés pour le dépistage de la Trisomie 21 (ABA T21) (2018), il est préférable d'effectuer le prélèvement du 2^{ème} trimestre entre 15 et 17SA.

PRELEVEMENT SANGUIN

1.4.1 TYPE DE PRELEVEMENT

Toutes les publications scientifiques référencées ont été établies sur des sérums. Ainsi, il est recommandé de réaliser le prélèvement sur tube sec tout en évitant les sérums lipémiques.

Aucune mention ou différence n'a été rapportée pour l'usage de tubes sous vide, avec gel séparateur ou avec activateur de la coagulation aussi bien dans les publications que dans les fiches techniques des kits de réactifs

des quatre solutions majeures pour le dépistage de la T21 (Thermo Brahms, Siemens, Perkin Elmer, Roche). Il est à noter que le jeûne n'interfère pas sur la détermination de ces marqueurs sériques.

1.4.2 CONDITIONS DE PRELEVEMENT

Toutes les fiches techniques des différentes solutions soulignent qu'un retard de centrifugation a pour conséquence une dénaturation des sous-unités de la HCG et une élévation de la FBCG.

Le transport du sérum décanté à température ambiante (non réfrigéré) expose au risque d'une élévation conséquente de la FBCG augmentant faussement le risque calculé.

Les conditions de prélèvements sont synthétisées dans le tableau 3.

Tableau 3 : recommandations relatives au prélèvement

Etape	Préconisations
Prélèvement	Sang veineux sur tube sec
Centrifugation (et décantation si absence de gel séparateur)	Dans les 6h après prélèvement
Conservation du sérum	Entre 20 et 25°C si dosage dans les 24h après prélèvement Entre 2 et 8°C si dosage dans les 72h après prélèvement Entre -15 et -25°C si dosage au delà de 72 h après prélèvement
Cycle de congélation – décongélation	3 cycles (au plus)

2. PHASE ANALYTIQUE

2.1. DOSAGE DES MARQUEURS SERIQUES MATERNELS (MSM)

Le dosage des MSM doit être réalisé en parfaite adéquation avec le protocole technique fourni par le fabricant. Les réactifs et produits réactifs, y compris les matériaux associés d'étalonnage et de contrôle ainsi que les logiciels d'interprétation spécifiquement adaptés à l'utilisation de ces réactifs, doivent disposer du marquage CE.

Il n'y a pas de particularité visant les MSM par rapport aux autres paramètres usuels en immuno-analyse.

Les PAPP-A > 10 UI/mL n'ont pas besoin d'être analysées à nouveau avec dilution vu qu'avec une valeur > 10 se trouve au-dessus des valeurs de bornage maximal des logiciels.

Les valeurs très élevées de HCG, FBCG et AFP nécessitent par contre une quantification précise.

2.2. IMPORTANCE DES UNITES

Le biologiste doit porter une attention particulière aux unités des dosages fournies par l'automate et leur concordance avec les unités à saisir sur le logiciel de calcul du risque.

2.3. CALCUL DU RISQUE

2.3.1. RISQUE A TERME OU RISQUE AU JOUR DU PRELEVEMENT

Actuellement il est recommandé de mentionner le seuil du risque le jour du prélèvement qui est de $1/250^*$. Dans le cas où le biologiste veut éditer des risques à terme, il devra mentionner un seuil à $1/380$.

Nous proposons que tous les logiciels présents en Tunisie soient tous programmés sur la date au jour du prélèvement, au 1^{er} trimestre et au 2^{ème} trimestre, comme le préconise l'ANSM.

* : Le seuil de $1/250$ a été maintenu dans cette édition mais il est à noter qu'il est susceptible d'être révisé prochainement en fonction des seuils adoptés par la littérature (pas de risque < $1/1000$, risque intermédiaire entre $1/1000$ et $1/50$ et risque élevé $\geq 1/51$).

2.3.2. MEDIANES DES MARQUEURS

Les logiciels de calcul du risque sont programmés en incluant les médianes de chacun des MSM. Chaque fabricant a fourni un logiciel qui inclue les médianes des MSM dosés sur son propre automate, et ces valeurs sont très différentes d'une solution à une autre, et aussi d'un modèle à un autre.

Les valeurs des MSM ne sont pas superposables d'une solution à une autre.

Il est impératif d'utiliser le logiciel avec l'automate de la même solution. Le marquage CE attribué à la solution l'a été pour le couple automate – logiciel dédié.

2.3.3. CALCUL SELON TERME LCC OU CALCUL SELON TERME DDR AVEC LR LCC/CN COMBINE

Le logiciel donne la possibilité d'éditer un calcul selon deux modes au choix :

- La LCC définit à la fois le terme de la grossesse et aussi la médiane de la CN. Ce choix implique une LCC qui est mesurée selon les critères stricts du guide de bonnes pratiques en échographie fœtale.

- La LCC définit seulement la médiane de la CN, puis le terme de la grossesse sera saisi indépendamment. Ce 2^{ème} choix permet au biologiste d'être moins dépendant de la qualité échographique des données qui lui sont fournies, et il pourra ainsi donner des MOM des MSM indépendants du terme défini par la LCC.

Les deux modes de calcul sont valides, mais peuvent donner des résultats différents en cas de discordance de terme LCC / DDR

Il est recommandé de contacter le clinicien en cas de discordance LCC / DDR pour décider du terme précis de la grossesse à prendre en considération.

2.3.4. BORNAGES DU LOGICIEL ET TRONCATURES

Les logiciels de dépistage T21 comportent pour chaque MSM et aussi pour la CN des bornages, c'est à dire des limites inférieures et supérieures en MOM au-delà desquelles le logiciel ne prendra en compte que la limite elle-même.

Par exemple, si pour une patiente donnée FBHCG = 7 MOM et que le bornage supérieur du logiciel pour FBCG est de 4 MOM comme limite supérieure, le logiciel ne prendra en compte pour ses calculs de risque que la valeur à 4 MOM.

Cet outil mathématique a été établi à titre de protection pour faire qu'un marqueur à lui seul ne biaise pas tout le calcul. Toutefois, cet outil peut induire en erreur le biologiste dans les cas où le risque calculé est proche du seuil et que le bornage empêche justement de franchir ce seuil.

Pour le même exemple cité dessus, supposons qu'avec une valeur bornée de FBCG à 4 MOM le risque édité est de $1/270$, alors qu'en réalité la FBCG est à 7 MOM, le risque réel serait supérieur au seuil.

L'ABAT21 indique dans ce cas de figure que le prescripteur doit être informé que le calcul est tronqué par le bornage du logiciel faisant que le risque calculé est minimisé. Le prescripteur pourra ainsi selon ses propres critères décisionnels décider ou pas d'une orientation vers l'étape de diagnostic cytogénétique (Muller F, 2014).

Les bornages des quatre logiciels validés par ANSM utilisés en France pour le dépistage de la T21 en 2013 sont résumés dans le tableau 4.

Tableau 4 : Bornages bas et hauts des quatre logiciels (Weingertner et coll., J Gynecol Obstet Biol Reprod, 2010)

Industriel	PAPP-A	hCGβ (1 T)	AFP	hCGβ (2 T)	hCG	CN	Estriol non conjugué
PerkinElmer	0,20–3	0,30–5	0,40–3	0,30–5	0,30–5	0,80–2,50	0,40–2
Roche	0,16–5	0,20–5	0,30–5		0,20–5	0,78–5	
Siemens	0,10–10	0,10–10	0,10–10	0,10–10	0,10–10	0,78–5	
ThermoFischer	Aucun bornage (DoE)	Aucun bornage (DoE)	0,30–3,30	0,20–5	0,20–5	Aucun bornage (DoE)	

3. PHASE POST-ANALYTIQUE

3.1 COMPTE-RENDU

Le compte rendu de dépistage T21 doit mentionner les informations suivantes :

- La solution de dépistage
- L'Identité de la patiente
- Les informations fournies dans le bon de demande d'analyse : Poids, Diabète, Tabac, Gémellarité, ...
- La LCC, le terme précis au jour du prélèvement, ou bien les autres paramètres définissant le terme (DDR, Diamètre Bipariétal ...)
- La valeur de la CN et sa MOM
- Les valeurs des MSM et leur MOM corrigées à chacun.
- Dans le cas d'un échographiste qui dispose de son propre logiciel d'édition de risque (exemple : Astraia..) le biologiste doit fournir les valeurs brutes des MSM et les MOM brutes et non pas celles corrigées, surtout si il dispose de médianes propres à son laboratoire
- Le risque de l'âge maternel seul au jour du prélèvement
- Le risque combinant âge et CN (si LCC/CN fournis) pour la T21
- Le risque combinant âge et tous les MSM pour la T21
- Le risque combinant âge, CN et MSM et la valeur seuil adoptée pour la T21

Ici les biologistes disposant du dosage de PLGF au 1^{er} trimestre doivent mentionner qu'ils utilisent un seuil différent leur permettant de générer moins de faux négatifs.

- L'interprétation risque faible ou risque accru selon le seuil mentionné

- Le risque combinant âge, CN et MSM et la valeur seuil adoptée pour la T18

- L'interprétation risque faible ou risque accru selon le seuil mentionné

- Mentionner si un MSM se situe hors bornage logiciel et si ce bornage concerne la limite supérieure pour HCG ou FBHCG, indiquer que le risque fourni est minimisé par le bornage logiciel.

- Rappel sur les objectifs et le cadre légal du dépistage avec la mention stipulant que le dépistage ne vise pas à remplacer l'étape de diagnostic cytogénétique et qu'il n'a pas pour objectif de confirmer ou d'écarter une T21 avec certitude, que le risque calculé est dépendant notamment de la qualité des mesures échographiques fournies et que le biologiste ne peut en aucun cas être tenu pour responsable quant aux données échographiques transcrites par l'échographiste sur le bon de prescription.

3.2 INTERPRETATION DES PROFILS

ATYPIQUES

Devant les valeurs atypiques d'un ou plusieurs marqueurs sériques maternels, un commentaire doit être rédigé, les étiologies les plus probables et décrites dans la littérature sont résumées dans le tableau 5.

Tableau 5 : Etiologies et causes d’erreurs évoquées devant des valeurs atypiques des marqueurs sériques (Weingertner et al., J Gynecol Obstet Biol Reprod, 2010)

Étiologies à évoquer et Causes d’erreurs	
AFP élevée ($\geq 2,50$ MoM)	Causes d’erreurs : Grossesse multiple non prise en compte, jumeau évanescent, réduction embryonnaire Saignements fœto-maternels Défaut de fermeture du tube neural ; omphalocèle, laparoschisis ; MFIU Syndrome néphrotique finlandais ; épidermolyse bulleuse
AFP basse ($< 0,25$ MoM)	Trisomie 21 avec AFP isolément basse Si AFP proche de zéro : déficit génétique en AFP
Estriol bas ($< 0,30$ MoM)	Trisomie 21 ; triploïdie ; trisomie 18 ; MFIU ; déficit en sulfatase ou aromatasé placentaire ; syndrome de Smith-Lemli-Opitz
hCG β /hCG totale (> 10 MoM)	Cause d’erreur : grossesse multiple non prise en compte ; insuffisance rénale maternelle Trisomie 16 confinée au placenta ; triploïdie Choriocarcinome, môle Dysfonctionnement placentaire : HTA gravidique, pré-éclampsie
hCG/hCG β ($< 0,25$ MoM)	Trisomie 18 ; Triploïdie MFIU récente
PAPP-A élevée ($\geq 2,50$ MoM)	Causes d’erreurs : Grossesse multiple non prise en compte, jumeau évanescent, réduction embryonnaire Aucune pathologie fœtale
PAPP-A basse ($< 0,25$ MoM)	Trisomie 18 ; triploïdie ; trisomie 21 PAPP-A proche de zéro : Syndrome de Cornelia de Lange Risque de pré-éclampsie
2 marqueurs ($< 0,50$ MoM)	Causes d’erreurs : Une erreur pré-analytique doit être exclue Trisomie 18 ; triploïdie ; MFIU
2 marqueurs ($\geq 2,50$ MoM)	Cause d’erreur : Grossesse multiple non prise en compte Insuffisance placentaire : RCIU, pré-éclampsie ; triploïdie
MFIU : mort fœtale <i>in utero</i> ; MoM : multiple de la médiane ; RCIU : retard de croissance intra-utérin. Les conduites à tenir sont à discuter au niveau des CPDPN. Elles sont évoquées dans le texte.	

3.3. TRANSMISSION DU RESULTAT

Il est recommandé que le résultat soit transmis en double exemplaire à la patiente et au prescripteur pour lui permettre de disposer des délais nécessaires pour convoquer la patiente en cas de besoin.

3.4 SUIVI DES RESULTATS

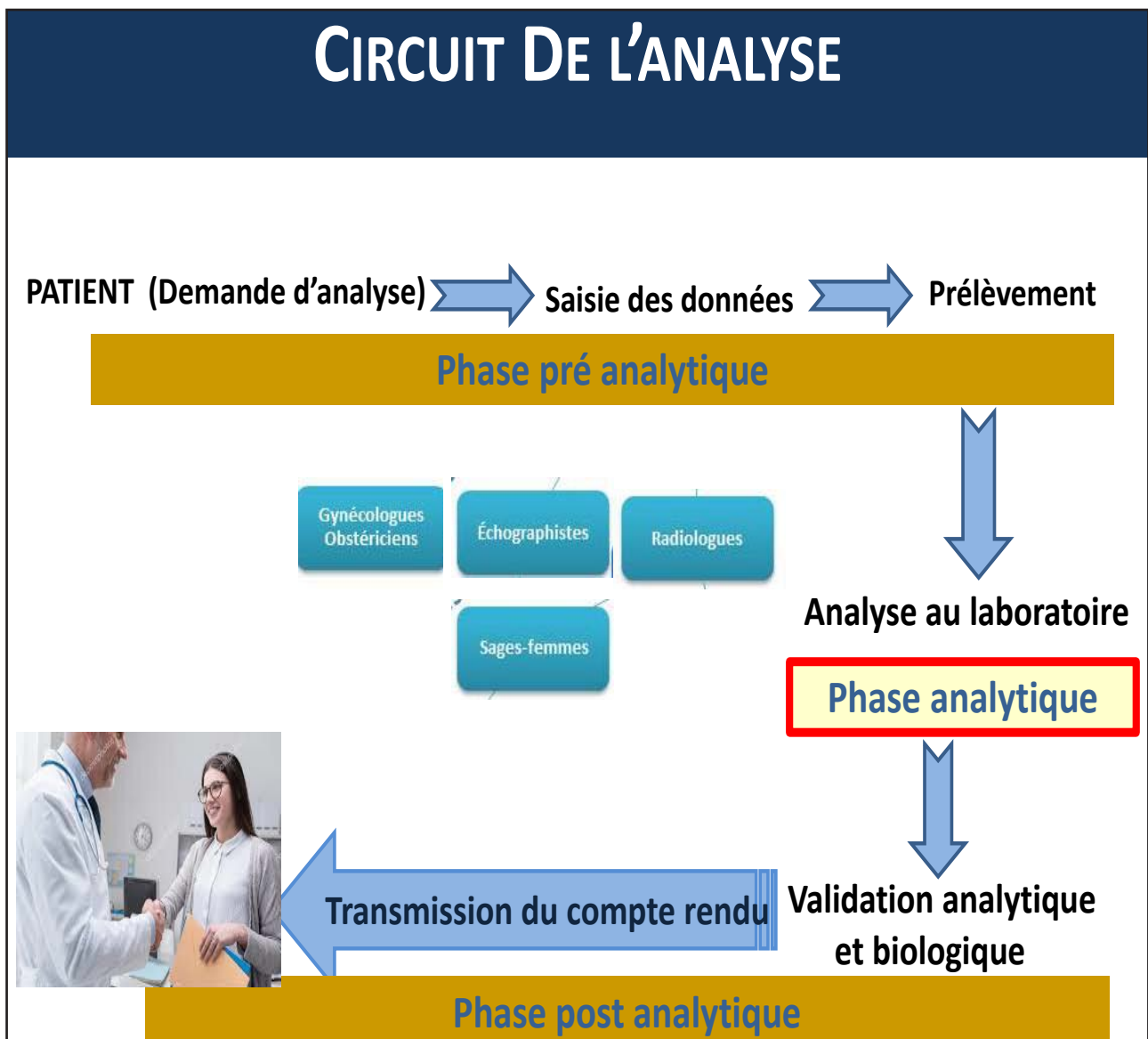
Un suivi des résultats est fortement recommandé auprès des cliniciens afin de contrôler au mieux les résultats de dépistage de T21.

Il est souhaitable d’inclure une fiche de suivi de grossesse avec le compte rendu à remplir et à retourner par le clinicien au laboratoire

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- M. Vekemans
Âge maternel et autres facteurs de risque de la trisomie 21. Annales de biologie clinique 2003, 61 (4) : 497-498
- Haute Autorité de Santé. Evaluation des stratégies de dépistage de la Trisomie 21. Recommandations en santé publique, Juin 2007
- Herman A, Maymon R, Dreazen E, Caspi E, Bukovsky I, Weinraub Z. Nuchal translucency audit: a novel image-scoring method. Ultrasound Obstet Gynecol. 1998; 12(6):398-403.
- Madsen HN, Ball S, Wright D, Tørring N, Petersen OB, Nicolaides KH, Spencer K.
A reassessment of biochemical marker distributions in trisomy 21-affected and unaffected twin pregnancies in the first trimester. Ultrasound Obstet Gynecol. 2011 ; 37(1):38-47.
- National Health Service
Fetal anomaly screening programme (Down, Edward and Patau syndromes screening) handbook for laboratories, April 2015 www.gov.uk/nhs
- Muller F, Dreux S, Czerkiewicz I, Bernard M, Lacroix I, Moineau MP et al
Dépistage de la T21 par les marqueurs sériques maternels : justification des commentaires appliqués par la biologistes
J Gynecol Obstet Biol Reprod (Paris). 2014 ; 43 (9) : 671-679

7. Nicolaides KH The 11-13⁺⁶ weeks scan Fetal Medicine Foundation, 2004
8. Poloce F, Boisson-Gaudina C. Marqueurs sériques maternels d'anomalies fœtales (trisomie 21, anomalies chromosomiques, spina bifida,...). Revue Francophone des laboratoires ; 2010. : Doi : RFL-04-2010-40-421-1773-035X-101019-201001466
9. Prats P, Rodríguez I, Comas C, Puerto B. First trimester risk assessment for trisomy 21 in twin pregnancies combining nuchal translucency and first trimester biochemical markers. Prenat Diagn. 2012 ; 32(10):927-932.
10. Prats P, Rodríguez I, Nicolau J, Comas C. Early first-trimester free-β-hCG and PAPP-A serum distributions in monochorionic and dichorionic twins. Prenat Diagn. 2012 ; 32(1):64-9
11. Snijders RJ, Noble P, Sebire N, Souka A, Nicolaides KH. UK multicentre project on assessment of risk of trisomy 21 by maternal age and fetal nuchaltranslucency thickness at 10-14 weeks of gestation. Fetal Medicine Foundation First Trimester Screening Group. Lancet. 1998; 352(9125):343-346.
12. Wright D, Syngelaki A, Bradbury I, Akolekar R, Nicolaides KH. First-Trimester Screening for Trisomies 21, 18 and 13 by Ultrasound and Biochemical Testing. Fetal Diagn Ther 2014;35:118-126.



PHASE PRÉ-ANALYTIQUE

ESTIMATION DU RISQUE DE TRISOMIE 21/13/18 et DLT FŒTALE

Par l'étude des marqueurs sériques maternels- 1^{er} et 2^{ème} trimestre
(Réactifs® - Loaiel)

PRESCRIPTION

- 1^{er} trimestre : risque combiné (11,0 à 13,6 SA) [PAPP-A+β HCG libre+ CN]
- 2^{er} trimestre : risque séquentiel Intégré (14,0 à 17,6 SA) [HCG+AFP (+μE3) + CN]
- 2^{er} trimestre : risque simple (14,0 à 17,6 SA) [HCG+AFP (+μE3)]

Réservé au Laboratoire
Date du prélèvement :

PRESCRIPTEUR

Dr : Identifiant :

Adresse :

Tel. : Fax :

PATIENTE

Nom : Prénom :

Date Naissance : [][]-[][]-[][][][] Lieu :

Adresse :

DONNEES NECESSAIRES AU CALCUL DU RISQUE

Date de l'échographie : [][]-[][]-[][][] DDR : [][]-[][]-[][][]

Nombre de Fœtus : []

CN (1) : [][], [][] mm LCC (1) : [][][], [][] mm

OPN (1) : Oui Non BIP (1) :

Si grossesse Gémellaire : Monochoriale Bichoriale

CN (2) : [][], [][] mm LCC (2) : [][][], [][] mm

OPN (2) : Oui Non BIP () :

DONNES CONCERNANT LA PATIENTE :

Poids : [][][][], [][] Kg Fumeuse : Oui Non

Ethnie : Caucasiens Nord-africain Autre Diabète : Oui Non

Grossesse : Spontanée AMP Grossesse antérieure avec T21 : Oui Non

Transfert d'Embryons : Frais Congelé Date de Ponction :

Autre :

ACTIVITES DE LA SOCIETE TUNISIENNE DE BIOLOGIE CLINIQUE

Manifestations scientifiques

La STBC a organisé des journées de formation au profit des médecins et pharmaciens biologistes et des résidents en biologie clinique. Etant donné la situation épidémiologique liée à la pandémie de la COVID-19, la STBC a organisé ces journées sous forme de webinaires dans la plus grande majorité des cas. La STBC a également organisé le 1^{er} Congrès Arabo-Européen « Médecine de laboratoire et mobilité » et les XXXIV^{èmes} Journées Nationales de Biologie Clinique du au février 2021 sous format virtuel du 18 au 20 février 2021.

- **Webinaires**

L'antibiogramme en 2020, le 09 octobre 2020

Mycoses tropicales cutanées rencontrées en Tunisie, le 16 octobre 2020

La journée mondiale du sepsis, le 30 octobre 2020

Diagnostic et prise en charge de la maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né,
le 08 janvier 2021

Management de la qualité en microbiologie et en parasitologie, le 15 janvier 2021

L'antifongigramme, le 22 janvier 2021

- **Séminaires**

Phase pré-analytique en biochimie, le 25 septembre 2020, à Tunis

- **Les mercredis du biologiste**

Il s'agit d'une rencontre trimestrielle dédiée à la présentation et la discussion de cas clinico-biologiques. Les mercredis du biologiste ont été organisés sous forme de webinaires.

Le mercredi du biologiste, le 16 décembre 2020

Le mercredi du biologiste, le 17 mars 2021

- **Le 1^{er} Congrès Arabo-Européen « Médecine de laboratoire et mobilité »
et les XXXIV^{èmes} Journées Nationales de Biologie Clinique, 18-20 février 2021**

Ce congrès a été organisé par la STBC en collaboration avec la Fédération Arabe de Biologie Clinique (AFCB) et la Fédération Européenne de Médecine de Laboratoire (EFLM), sous les auspices de la Fédération Internationale de Chimie Clinique et Médecine de Laboratoire (IFCC).

Plus de 2700 participants de 30 pays différents ont participé au congrès. Les conférences ont été animées par 38 conférenciers de 16 pays différents.

INSTRUCTIONS AUX AUTEURS

Introduction

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

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

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

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

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

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

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

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

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

La langue de soumission

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

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

Les types de manuscrits

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

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

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

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

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

Préparation des manuscrits

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Seuls les articles publiés ou sous presse peuvent être inclus.

• *Exemples de références:*

o *Article d'une revue :*

Panteghini M, Forest JC. Standardization in laboratory medicine: new challenges. Clin Chim Acta 2005;355:1-12.

o *Article d'un Livre*

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

Pour Soumettre un article :

Pour soumettre un article vous devez accéder au site [http://www.rtbc.org.tn /](http://www.rtbc.org.tn/).

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

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

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

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

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

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

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

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

Dernière mise à jour : Mars 2015

N O T E S

A series of horizontal dotted lines intended for taking notes.

