

Revue Tunisienne de BIOLOGIE CLINIQUE

المجلة التونسية للبيولوجيا السريرية

2023 - Volume 30, n°2

Organe de la Société Tunisienne de Biologie Clinique

ISSN : 2724-7201

eISSN : 2724-721X

Editorial

La rédaction médicale et scientifique. Conseils d'une rédactrice en chef.

Laurence Piéroni

Revue générale

L'aplasie médullaire acquise: épidémiologie, diagnostic et traitement.

Hager Zarrouk, Hamida Jouini, Nour El Houda Toumi

Articles originaux

Evaluation du portage viral du SARS-CoV2 sur prélèvement nasopharyngé après trois périodes d'isolement différentes de 14, 10 et 5 jours.

Eya Samaali, Mariem Gdoura, Amira Chortani, Donia Sahli, Habib Halouani, Amal Chaabouni, Amel Sadraoui, Walid Hammemi, Henda Touzi, Zina Medeb, Nahed Hogga, Henda Triki

Séroprévalence des anticorps anti-SARS-Cov2 chez les drépanocytaires du Burkina Faso.

Salam Sawadogo, Koumpingnin Nebie, Catherine Traore, Abdoul-Guayini Sawadogo, Donatien Kima, Malick Nabaloum, Eric Arnaud Diendéré, Henri Gautier Ouedraogo, Eléonore Kafando, Yéri Esther Hien

Epidemiology of Malaria in Rabta.

Hind Bouguerra, Aicha Kallel, Sana Jemel, Sonia Marouen, Aida Berriche, Mariem Massoued, Baraa Hmissi, Slah Belhadj, Hanène Tiouiri, Kalthoum Kallel

Impact des paramètres de l'hémogramme sur le pronostic intra hospitalier de l'infarctus du myocarde.

Sonia Chouaieb, Wiem Lazzem, Mariem Belhédi, Zeineb Ben Hamida, Khadija Mzoughi, Ihsen Zairi, Sondes Kraiem, Mohamed Yassine Kaabar, Ikbel Ghachem, Asma Belhadj

A propos d'un cas

Blue-green inclusions bodies and COVID19.

Ikbel Ghachem, Mohamed Yassine Kaabar, Asma Bachali

Pratique quotidienne

Cannibalisme des cellules de la moelle osseuse par des cellules extra hématopoïétiques et phagocytose.

Sarra Fekih Salem, Wijdene El Borgi, Fatma Ben Lakhal, Ons El Ghali, Emna Gouider

Bureau Exécutif de la STBC

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

Comité de rédaction

Rédactrice en chef

Pr Yousr Galai

Rédacteurs en chef émérites

Pr Mohamed Chiheb Ben Rayana

Pr Farouk Barguellil

Attachés à la rédaction

Pr Zied Aouni

Pr Christophe Burucoa

Pr Manel Chaâbane

Pr Asma Ghariani

Pr Kalthoum Kallel

Dr Laurence Pieroni

Pr Vincent Sapin

Pr Mouna Sassi

Editorial

La rédaction médicale et scientifique. Conseils d'une rédactrice en chef 2
Laurence Piéroni

Revue générale

L'aplasie médullaire acquise: épidémiologie, diagnostic et traitement 6
Hager Zarrouk, Hamida Jouini, Nour El Houda Toumi

Articles originaux

Evaluation du portage viral du SARS-CoV2 sur prélèvement nasopharyngé après trois périodes d'isolement différentes de 14, 10 et 5 jours..... 12
Eya Samaali, Mariem Gdoura, Amira Chortani, Donia Sahli, Habib Halouani, Amal Chaabouni, Amel Sadraoui, Walid Hammemi, Henda Touzi, Zina Medeb, Nahed Hogga, Henda Triki

Séroprévalence des anticorps anti-SARS-Cov2 . chez les drépanocytaires du Burkina Faso 20
Salam Sawadogo, Koumpingnin Nebie, Catherine Traore, Abdoul-Guayini Sawadogo, Donatien Kima, Malick Nabaloum, Eric Arnaud Diendéré, Henri Gautier Ouedraogo, Eléonore Kafando, Yéri Esther Hien

Epidemiology of Malaria in Rabta 28
Hind Bouguerra, Aïcha Kallel, Sana Jemel, Sonia Marouen, Aïda Berriche, Mariem Massoued, Baraa Hmissi, Slah Belhadj, Hanène Tiouiri, Kalthoum Kallel

Impact des paramètres de l'hémogramme sur le pronostic intra hospitalier de l'infarctus du myocarde 36
Sonia Chouaieb, Wiem Lazzem, Mariem Belhédi, Zeineb Ben Hamida, Khadija Mzoughi, Ihsen Zairi, Sondes Kraiem, Mohamed Yassine Kaabar, Ikbel Ghachem, Asma Belhadj

A propos d'un cas

Blue-green inclusions bodies and COVID19 43
Ikbel Ghachem, Mohamed Yassine Kaabar, Asma Bachali

Pratique quotidienne

Cannibalisme des cellules de la moelle osseuse par des cellules extra hématopoïétiques et phagocytose 46
Sarra Fekih Salem, Wijdene El Borgi, Fatma Ben Lakhel, Ons El Ghali, Emma Gouider

EDITORIAL

La rédaction médicale et scientifique. Conseils d'une rédactrice en chef.

Laurence Piéroni^{1,2}

¹ Département de Biochimie-Hormonologie-Suivi thérapeutique, Hôpital Tenon, DMU BioGeM, APHP.SU, Paris, France

² Rédactrice en chef, Annales de Biologie Clinique

La rédaction d'un article destiné à être publié dans une revue médicale ou scientifique obéit aux mêmes règles qui régissent la rédaction de tout article : elle doit permettre de captiver le lecteur ! Une part non négligeable de l'intérêt suscité est bien entendu liée au sujet de votre travail, mais une part non négligeable est également due à la manière dont vous allez le présenter à vos lecteurs potentiels.

Dans cet éditorial, vous seront résumées quelques recommandations utiles pour passer avec succès les barrières des comités de rédaction et des relecteurs.

Tout commence avec le titre!

C'est avec lui que vous allez influencer la première impression des lecteurs (comité de rédaction, relecteurs et enfin collègues).

Il lui faudra être concis, clair et informatif à la fois. N'hésitez pas à intégrer les mots-clés de votre travail dès cette étape et à vous inspirer des titres qui retiennent votre attention dans vos journaux préférés.

La deuxième étape du texte mais la dernière à rédiger : Le résumé

Il faut vous mettre dans la peau d'un orateur qui aurait une minute pour expliquer ce qu'il a fait, comment, quels sont ses résultats et quelles en sont les conséquences. C'est donc une version condensée de l'article, que l'on peut présenter sous deux formats.

Dans le format conventionnel, un paragraphe est suffisant. Dans le format structuré, les têtes de chapitre vont suivre la ligne directrice de l'article : contexte, objectifs, méthodes, résultats, discussion-conclusion. Le style descriptif est adéquat pour les revues, le style informatif sera plus détaillé.

Une règle à suivre : rédiger le résumé après la rédaction du texte principal.

L'entrée en matière : L'introduction

Cette fois, il faut vous mettre dans la peau d'un modérateur de congrès qui présenterait un orateur. Du sujet le plus large possible, c'est-à-dire des connaissances actuelles sur votre travail, vous passerez ensuite aux problématiques qui restent à résoudre et vous proposerez votre hypothèse et l'approche que vous allez tenter.

SUITE EDITORIAL

L'introduction doit présenter toutes les parties du manuscrit, que l'on doit retrouver par la suite : l'approche introduit les méthodes, l'hypothèse formulée introduit les résultats, la question que vous posez prépare la discussion. Mais il ne faudra pas exposer directement ni la méthode, ni les résultats, ni la conclusion dans cette partie de l'article. Là réside toute la difficulté de l'exercice.

L'introduction est, avec la discussion, la partie la plus littéraire d'un article scientifique et il faudra veiller à utiliser des phrases de transition. Il faudra également éviter les longueurs et s'interroger sur la légitimité de certaines références bibliographiques (introduction ou discussion ?).

Les réponses aux questions QUI, QUE, QUAND, OU, COMMENT et POURQUOI ? Les matériels et méthodes

Cette partie de l'article doit être très détaillée. Il est utile de rédiger un premier jet, comme pour un mode opératoire, sauf si les détails sont déjà publiés, et dans ce cas, on citera la référence.

Le temps utilisé doit être le passé, le style, actif ou passif doit être constant dans le manuscrit.

Dans cette section, on doit trouver ce qui est connu avant le début de l'étude. Le reste se trouvera dans la section « résultats ».

Le cœur du travail : les résultats

La présentation des résultats va permettre de leur donner de l'importance. Il est classique d'utiliser un ordre chronologique pour cela, mais il est également possible de comparer un sujet à un groupe d'études. Une troisième possibilité est de commencer par des résultats généraux (données de la population étudiée) pour se diriger vers des résultats spécifiques (par exemple, des résultats d'études cliniques : résultats de chaque groupe d'étude comparés à ceux du groupe témoin).

Les résultats doivent être présentés au passé.

Pour cela, il existe des listes et des recommandations (CONSORT, STARD, ...). Il ne faut pas oublier de citer les résultats négatifs.

Lorsque l'on parle de statistiques, le mot significatif doit être suivi d'une valeur mathématique ou d'une valeur limite, sinon, il est préférable d'utiliser les termes substantiel, considérable, remarquable.

Il faudra vérifier qu'à tout résultat correspond une méthode.

En conclusion, pour mettre en valeur les résultats importants, il est indispensable de les présenter clairement et de ne pas les diluer dans une discussion inappropriée.

Pour clôturer, la discussion :

A l'inverse de l'introduction, la discussion reprend en premier la question posée dans l'introduction, puis décrit comment apporter une réponse grâce aux résultats obtenus. Ensuite, le sujet sera étendu à d'autres études et enfin le point sera fait sur la contribution de votre travail au domaine étudié, ce qui ouvrira des perspectives.

Dans ce paragraphe, la présentation du travail des autres équipes que la vôtre sera un élément apprécié. Il est conseillé de terminer par « Ce qu'il faut retenir », sans répéter ce qui vient d'être discuté.

Les illustrations : un outil à maîtriser

Un élément majeur des articles scientifiques sont les illustrations, sous forme de figures, explicites sans texte, pour les variables continues ou les graphiques, pour les variables discontinues. Dans tous les cas, il faut veiller au choix de l'échelle des axes, car cela oriente l'interprétation visuelle des résultats, tout comme l'orientation des barres des graphiques ou les représentations des diagrammes dits « en camembert ».

Enfin, les tableaux sont très utiles, lorsque les détails sont plus importants que les tendances, quand la quantité de données est trop importante pour les présenter clairement dans le texte. Il existe des règles générales de construction des tableaux, mais si elles existent, il faut suivre scrupuleusement les recommandations aux auteurs.

Ne pas oublier les références

Il s'agit d'un travail à organiser pendant la rédaction de l'article.

Il faut veiller à respecter les formats indiqués (Vancouver, Harvard, pour les plus fréquents) et s'aider des logiciels de gestion bibliographiques. Avant de soumettre, il convient de vérifier que toutes les références citées figurent dans le texte.

Et les auteurs...

La contribution à l'article correspond à une définition précise et il convient de respecter cette définition. Avant la rédaction, et pour éviter toute surprise, il faut s'accorder sur l'ordre des auteurs et en cas de contribution équivalente, le préciser dans une note.

En conclusion,

Pour être apprécié du comité de rédaction, et ne pas laisser paraître que l'on soumet dans une revue après rejection, respecter les recommandations aux auteurs !

Remerciements

- Annesley T M, Clin Chem 2010 ; 56 :357-60.
- Annesley T M, Clin Chem 2010 ; 56 :521-4.
- Annesley T M, Clin Chem 2010 ; 56 :708-13.
- Annesley T M, Clin Chem 2010 ; 56 :897-901.
- Annesley T M, Clin Chem 2010 ; 56 :1066-70.
- Annesley T M, Clin Chem 2010 ; 56 :1671-4.
- Annesley T M, Clin Chem 2010 ; 56 :1229-33.
- Annesley T M, Clin Chem 2010 ; 56 :1394-1400.
- Annesley T M, Clin Chem 2010 ; 56 :1528-34.
- Annesley T M, Clin Chem 2011 ; 57 :14-7.
- Annesley T M, Clin Chem 2011 ; 57 :1239-41.

ERRATUM

Dans l'article « Brucellose focalisée : à propos d'un cas atypique », Rev. Tun. Biol. Clin. 2023; 30(1) : 44-46 par Souli *et al.*, la liste des auteurs est incomplète. Les auteurs au complet sont comme suit :

Khaoula Souli, Sarah Skhiri, Manel Ennaceur, Sonia Chouaieb.

L'aplasie médullaire acquise : épidémiologie, diagnostic et traitement

Acquired aplastic anemia: epidemiology, diagnosis and treatment

Hager Zarrouk
Hamida Jouini
Nour El Houda Toumi

Laboratoire d'Hématologie
biologique - Hôpital d'Enfants
Bechir Hamza de Tunis- Bab Saâdoun
1006- Tunis

Soumis le 7 mars 2023
accepté le 17 juillet 2023

Auteur correspondant :
Dr Hager Zarrouk, AHU

Adresse :
Laboratoire d'hématologie,
Hôpital d'enfants Bechir Hamza de Tunis.

Courriel :
zarroukhager@gmail.com

Résumé

L'aplasie médullaire acquise est une pathologie rare. Elle est deux à trois fois plus répandue en Asie qu'en Europe et en Amérique. Elle est dotée d'une hétérogénéité clinique et nosologique. Dans 70-80% des cas, elle est idiopathique néanmoins certains facteurs de risque ont été identifiés. Parmi ces facteurs, on retrouve certains médicaments, des viroses, l'hépatite auto-immune, des maladies auto-immunes, la grossesse, le polymorphisme HLA,... Les critères diagnostiques associent une diminution stable de deux ou trois lignées sanguines, et une moelle pauvre sur la biopsie médullaire. L'aplasie médullaire acquise idiopathique n'a pas de marqueur spécifique et c'est principalement un diagnostic d'exclusion des autres étiologies d'insuffisance médullaire. Cette pathologie peut être traitée soit par l'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, soit par le traitement immunosuppresseur associant le sérum anti-lymphocytaire à la cyclosporine. L'Eltrombopag, un thrombopoïétine-mimétique de synthèse, a fait ses preuves dans le traitement des formes réfractaires et en première ligne en association avec le traitement immunosuppresseur standard. Le traitement de support basé sur les transfusions sanguines, la prophylaxie anti-infectieuse et la prévention de l'hémochromatose a contribué à améliorer le pronostic de cette hémopathie. Cette mise au point passe en revue l'épidémiologie, le diagnostic et le traitement de l'aplasie médullaire acquise.

Mots-clés : aplasie médullaire acquise, épidémiologie, diagnostic, traitement.

Abstract

Acquired aplastic anemia is a rare pathology. It is two to three times more common in Asia than in Europe and America. It is clinically and nosologically heterogeneous. In 70-80% of cases, it is idiopathic; however, some risk factors have been identified. These factors include certain drugs, viruses, autoimmune hepatitis, autoimmune diseases, pregnancy, HLA polymorphism... Diagnostic criteria include a stable decrease in two or three blood cell lines and poor marrow biopsy. Idiopathic acquired aplastic anemia has no specific marker and is mainly a diagnosis of exclusion of other etiologies of bone marrow failure. This pathology can be treated either by allogeneic hematopoietic stem cell transplantation or by immunosuppressive therapy combining anti-thymocyte globulin with cyclosporine A. Eltrombopag, a synthetic thrombopoietin mimetic, has been shown to be effective in the treatment of refractory forms and as first-line therapy in combination with standard immunosuppressive therapy. Supportive therapy based on blood transfusions, infection prophylaxis and prevention of hemochromatosis has helped improve the prognosis of this hemopathy. This update reviews the epidemiology, diagnosis and treatment of acquired aplastic anemia.

Keywords : Acquired aplastic anemia, epidemiology, diagnosis, treatment

INTRODUCTION

L'aplasie médullaire acquise (AMa) est une maladie rare et potentiellement mortelle. Elle est caractérisée par l'atteinte des cellules souches hématopoïétiques (CSH) se traduisant par une hypoplasie médullaire et des cytopénies périphériques (1).

Dans cet article, nous nous sommes proposés de résumer les connaissances actuelles et les avancées récentes relatives à l'épidémiologie, au diagnostic et au traitement de l'AMa.

1. Epidémiologie

1.1. Incidence

L'AMa est une pathologie rare, pouvant compromettre le pronostic vital. Elle est 2 à 3 fois plus répandue en Asie qu'en Europe et en Amérique. A l'échelle mondiale, son incidence varie de 2 à 7 cas par millions par an (1-5). La distribution de l'AMa selon l'âge est bimodale avec un premier pic aux alentours de 15-25 ans et un second après 60 ans (1,3,5,6) et la distribution selon le sexe varie en fonction des études (4,7).

1.2. Facteurs étiologiques

Les mécanismes à l'origine de la variation géographique de l'incidence de l'AMa n'ont pas été bien élucidés (8). Certes, l'AMa idiopathique est l'étiologie la plus fréquente (70-80%) (7), néanmoins certains facteurs de risques ont été identifiés.

Selon certains auteurs, la différence géographique de l'incidence serait attribuable à des facteurs environnementaux plutôt qu'à des facteurs génétiques. Une étude a montré que la population japonaise résidant à Hawaï avait le même taux d'incidence que les sujets américains (9). Parmi ces facteurs environnementaux, on retrouve les haptènes chimiques et les engrais d'origine animale. -L'exposition professionnelle aux haptènes chimiques et aux engrais d'origine animale :

L'association entre l'AMa chez les jeunes asiatiques et l'exposition professionnelle aux haptènes chimiques tels que le benzène et les pesticides a été démontrée. Il s'agit particulièrement des organophosphorés et des organochlorés (3, 4, 10).

Plusieurs autres facteurs ont été associés à l'AMa tels que des médicaments, la grossesse, des viroses et certaines pathologies.

-Les médicaments : Plusieurs médicaments ont été incriminés dans la survenue de l'AMa en induisant des réactions idiosyncrasiques. L'exemple classique est celui du chloramphénicol. Le mécanisme exact est encore inconnu, cependant l'effet myélosuppresseur serait dû à des lésions mitochondriales et à l'accumulation de métabolites toxiques pour les CSH (3). D'autres molécules sont impliquées dans la genèse de l'AMa telles que les anti-épileptiques (carbamazépine, acide valproïque), les anti-inflammatoires non stéroïdiens (indométacine, diclofénac, phénylbutazone), les sulfamides, les sulfones, les

sels d'or, les anticancéreux, les antithyroïdiens de synthèse et les inhibiteurs de tyrosine kinase (imatinib, nilotinib) (10, 11).

L'exposition médicamenteuse serait l'une des rares étiologies de l'AMa. Dans certains cas, elle serait limitée à des rapports de cas à l'instar du méthimazole et du leflunomide (3, 10).

-La grossesse : Elle a été associée à l'AMa. Paul Ehrlich, en 1888, a décrit le premier cas d'AMa chez une femme enceinte. Dans ce cas, la régression peut être spontanée avec une possibilité de récurrences lors des grossesses ultérieures (3, 11).

-Les infections virales : Un effet myélosuppresseur a été imputé à certaines viroses dont le virus Epstein-Barr, le virus de la Dengue, le Parvovirus B19, l'Herpes virus humain 6, le virus de l'immunodéficience humaine et les infections disséminées à Adénovirus (1,10).

De rares cas d'AMa ont été rapportés après l'infection au SARS-CoV 2 et après la vaccination (vaccin à base de microARN, Pfizer-BioNTech (BNT162b2) (12-14).

Les infections virales sont réputées être à l'origine de réponses immunitaires inappropriées telle que la lymphohistiocytose hémophagocytaire (LHH) et bien que rare, l'association d'une LHH avec l'AMa a été décrite. En effet, des mutations hétérozygotes du gène de la perforine (PRF1), impliqué dans certaines formes familiales de LHH, ont été retrouvées chez des sujets atteints d'AMa (1, 10).

-L'hépatite auto-immune (HAI) : L'HAI séronégative est une affection rare, pouvant se compliquer d'AMa dans 25% des cas (15). Les AMa post-hépatitiques représentent 5-10% des cas des AMa (2, 10, 16). Elles prédominent chez l'adulte jeune de sexe masculin et surviennent dans les 6 mois après l'élévation des transaminases (10,11). Cette forme d'AMa représente une situation très rare et sévère nécessitant un diagnostic et une prise en charge rapides.

-Les maladies auto-immunes (MAI) : Il existe une interrelation entre l'AMa et les MAI. Actuellement, on considère qu'un processus auto-immun serait à l'origine de l'AMa, en absence d'une étiologie médicamenteuse, toxique ou infectieuse (10,17). En effet, les MAI peuvent précéder le diagnostic de l'AMa, compliquer celle-ci ou être diagnostiquées concomitamment (10). Ces MAI touchent plus fréquemment l'adulte après 50 ans mais aussi les enfants (10). Parmi ces MAI, on retrouve le lupus érythémateux systémique, la polyarthrite rhumatoïde, la fasciite à éosinophiles, la polychondrite, la polymyosite et l'entéropathie auto-immune (7, 11).

-Les syndromes lymphoprolifératifs (SLP) : Exceptionnellement, un SLP peut être diagnostiqué avant, pendant ou après une AMa. Le dénominateur commun chez ces patients serait un background immunogénétique particulier. L'exposition aux infections

virales ou à des toxiques environnementaux augmentent le risque des deux maladies. Les médicaments utilisés dans le traitement du SLP déclencheraient le processus auto-immun. Probablement d'une manière restreinte par le HLA-DR, l'AMa apparaîtrait comme un dommage collatéral secondaire à un processus auto-immun dirigé contre le clone lymphoïde malin (17).

- Outre ces facteurs, certains déterminants génétiques ont été incriminés dans la survenue de l'AMa. Parmi ces derniers, on distingue ceux à médiation immunitaires et ceux à médiation non immunitaire.

Les facteurs génétiques à médiation immunitaire

De nombreuses études, réalisées dans des populations et des ethnies différentes, ont relaté l'existence d'un lien entre certains allèles HLA et l'AMa. Selon les résultats d'une méta-analyse publiée en 2017, certains seraient des allèles protecteurs (polymorphisme HLA-DRB), d'autres seraient plutôt prédisposant à l'AMa (polymorphisme HLA-A et HLA-DRB1) (18). L'allèle *HLA-B*40:02* aurait un rôle important dans la pathogenèse de l'AMa. La fréquence de cet allèle chez les sujets sains, est plus élevée dans les populations asiatiques par rapport aux populations européennes et aux Etats-Unis. Selon certains auteurs, cette forte prévalence pourrait expliquer en partie l'incidence élevée de l'AMa dans les pays asiatiques par rapport aux pays de l'Ouest (19). Les facteurs génétiques à médiation non immunitaire

Le raccourcissement des télomères, les mutations germinales et somatiques seraient des facteurs prédisposant à l'AMa (1).

2. Classification

Selon les critères de Camitta, l'AMa est définie par la présence d'au moins une bicytopénie (une hémoglobine (Hb) inférieure à 10 g/dl, une numération plaquettaire inférieure à $50 \times 10^9/L$, une neutropénie inférieure à $1,5 \times 10^9/L$) et une moelle hypocellulaire sans infiltration par des cellules anormales et sans excès de réticuline. La sévérité de cette pathologie est évaluée selon les critères de Camitta modifiés. En effet, l'AMa est qualifiée de sévère ; si on trouve une hypocellularité inférieure à 25% et au moins deux critères parmi les trois suivants : neutrophiles inférieurs à $0,5 \times 10^9/L$, numération plaquettaire inférieure à $20 \times 10^9/L$, nombre absolu de réticulocytes inférieur à $60 \times 10^9/L$ si le décompte est fourni par l'automate sinon $20 \times 10^9/L$ en cas de détermination manuelle. Si la neutropénie est inférieure à $0,2 \times 10^9/L$, l'AMa est dite très sévère. Les cas ne correspondant ni à l'AMa sévère ou très sévère, sont classés parmi les AMa modérées ou non sévères (6, 7). Cette classification revêt un intérêt majeur dans les modalités de prise en charge et dans le choix thérapeutique (8).

3. Diagnostic

L'AMa idiopathique n'a pas de marqueur spécifique et c'est principalement un diagnostic d'exclusion des

autres étiologies d'insuffisance médullaire (6, 10). Ainsi, une panoplie de tests s'impose avant de conclure à une AMa idiopathique. Il faudrait d'abord confirmer le syndrome d'insuffisance médullaire (SIM), le caractériser et finalement évaluer la sévérité de la maladie (10). Les critères diagnostiques associent une diminution stable de deux ou trois lignées sanguines, et une moelle pauvre sur la biopsie ostéomédullaire (BOM) (11).

3.1. L'examen clinique et l'interrogatoire

L'examen clinique et l'interrogatoire permettent de vérifier l'absence de syndrome tumoral, de syndrome malformatif, d'antécédents familiaux ainsi que d'éliminer une origine toxique ou médicamenteuse (10, 16).

3.2. L'hémogramme

A un stade précoce de la maladie, une cytopénie isolée est retrouvée, particulièrement la thrombopénie. Elle est au-dessous de 50 Giga/L, avec un volume plaquettaire moyen normal. Au moment du diagnostic, l'hémogramme montre d'emblée une pancytopénie ou une bicytopénie (10, 11). L'anémie est normocytaire normochrome arégénérative sans anisocytose ni poikilocytose. Le simple ralentissement des mitoses peut se traduire par une discrète macrocytose. Une carence martiale associée à l'AMa est rare. Elle peut entraîner d'autres anomalies et doit faire suspecter la présence d'un clone HPN (hémoglobinurie paroxystique nocturne) actif. La réticulocytopénie (<50 Giga/L) est un critère diagnostique important (10, 11).

La numération leucocytaire est variable ; pouvant être normale ou abaissée. Le signe le plus précoce est la neutropénie, vu leur courte durée de vie, alors que le taux des lymphocytes est préservé ou relativement élevé (10, 11). La monocytopénie impose le diagnostic différentiel avec une leucémie à tricholeucocytes ou un SIM héréditaire lié à une mutation GATA2. L'examen attentif du frottis sanguin permet de repérer les signes de dysmyélopoïèse, la présence de blastes ou d'autres cellules anormales telles que les tricholeucocytes, non en faveur d'une aplasie médullaire (6, 10, 11).

3.3. L'étude de la moelle hématopoïétique

Elle permet d'éliminer une pancytopénie périphérique, un néoplasme myéloïde ou lymphoïde, un envahissement médullaire, une myélofibrose, une LHH, une ostéopétrose, ou une maladie de Gaucher (2,11).

Le frottis d'aspiration médullaire est typiquement désertique ou nettement appauvri, notamment en érythroblastes et en précurseurs granulomonocytaires au profit des adipocytes. Les mégacaryocytes sont absents ou diminués. Tous les stades de maturation sont concernés. L'aspiration médullaire permet une meilleure étude morphologique, particulièrement pour l'évaluation de la dysplasie. L'AMa est caractérisée par l'absence de signes de dysplasie. Toutefois, des nids d'érythropoïèse avec un certain degré de dysérythropoïèse, principale-

ment des anomalies mégalo-blastiques, sont fréquentes. L'excès de plasmocytes, de lymphocytes, de mastocytes et d'histiocytes-macrophages est habituel. A un stade précoce de la maladie, des images d'hémophagocytose peuvent accompagner l'excès de macrophages. Néanmoins, un myélogramme normal n'élimine pas le diagnostic d'une AMA car la seule aspiration médullaire reflète mal la richesse du tissu hématopoïétique. Elle doit être toujours complétée par une BOM (6, 10, 11).

La BOM montre un appauvrissement plus ou moins homogène en précurseurs hématopoïétiques au profit des cellules grasses (11). 1 à 2 cm de BOM sont nécessaires pour confirmer l'hypocellularité, puisque les petites zones d'hématopoïèse résiduelle peuvent embrouiller le diagnostic (8). La moelle aplasique et hypocellulaire sont définies respectivement par une cellularité de moins de 10% (désertique) et de moins de 30% (10). On peut mettre en évidence des suffusions hémorragiques et un degré variable d'œdème interstitiel. La BOM permet de vérifier l'absence de cellules anormales, de signes d'inflammation et de fibrose médullaire (11).

3.4. L'examen cytogénétique

Les anomalies cytogénétiques étaient reliées aux syndromes myélodysplasiques (SMD) hypoplasiques. Actuellement, il est admis que les anomalies de type délétion 13q, trisomie 8, perte de l'hétérozygotie du bras court du chromosome 6(6pLOH), en absence de signes de dysplasie, sont compatibles avec le diagnostic d'une AMA. Malgré que la monosomie 7 soit plutôt associée au SMD chez l'enfant, chez l'adulte elle peut se voir dans l'AMA. Selon certains auteurs, elle doit faire suspecter un SIM héréditaire particulièrement chez les sujets jeunes (3,6,20).

Les examens cytogénétiques sont recommandés au moment du diagnostic et au cours du suivi. En effet, l'évolution en SMD ou en leucémie aigüe (LA) myéloblastique peut survenir des mois voire des années plus tard (10).

3.5. L'exclusion d'un syndrome d'insuffisance médullaire héréditaire

Bien que plusieurs tests ne soient pas prescrits en routine, tels que la mesure de la longueur des télomères sur sang périphériques et le dépistage génomique (séquençage de nouvelle génération, SNP arrays) (6), l'exclusion d'un SIM héréditaire s'impose chez les sujets jeunes <40 ans (20).

3.6. La cytométrie de flux

Elle permet d'exclure un SLP et d'évaluer le clone HPN ou des blastes dans le cas des LA hypoplasiques (8, 10, 16).

3.7. Les examens complémentaires

Plusieurs tests sont requis pour exclure les autres causes d'insuffisance médullaire tels que les explorations de la fonction hépatique, les sérologies virales, les anticorps antinucléaires, les anti-ADN double brin, le facteur rhumatoïde... (7, 8).

4. Le traitement

Les AMA peuvent être traitées soit par l'allogreffe de CSH, soit par le traitement immunosuppresseur. Quelle que soit la modalité thérapeutique choisie, une place fondamentale de la thérapeutique revient au traitement symptomatique de réanimation hématologique ou le traitement de support (12).

4.1. Le traitement spécifique

4.1.1. Le traitement immunosuppresseur et les facteurs de croissance

Le traitement de référence en première ligne de l'AMA sévère, en dehors des indications de l'allogreffe, est l'association du sérum antilymphocytaire (SAL) de cheval à la cyclosporine (CSA) (5, 6).

L'alemtuzumab (anticorps monoclonal anti-CD52) est une alternative intéressante au traitement standard (SAL- CSA) en cas de rechute ou de maladie réfractaire, chez les sujets âgés qui sont inéligibles à la greffe et chez les patients nécessitant une utilisation chronique de la CSA (6, 21).

L'utilisation en routine du G-CSF en dehors des neutropénies fébriles est controversée. Bien qu'il diminue significativement l'incidence des infections, il n'améliore pas pour autant la survie globale (8, 16). En outre, nombreuses études rétrospectives suggèrent un éventuel rôle du G-CSF dans la survenue d'évolution clonale de type SMD ou LA (5).

Il n'est pas recommandé d'utiliser l'érythropoïétine au cours de l'AMA ; qui est déjà présente à des taux circulants élevés (5,6).

Cas particulier des thrombopoïétine-mimétiques

Outre son effet stimulant des CSH résiduelles, l'eltrombopag aurait des propriétés immuno-modulatrices (augmentation des lymphocytes T régulateurs, sécrétion de TGF- β , altération de la différenciation des cellules dendritiques et une diminution de la libération d'IFN- γ et de TNF- α) (22).

L'agence américaine du médicament "Food and drug administration", approuve l'utilisation de l'eltrombopag dans le traitement des formes réfractaires et en association avec le traitement immunosuppresseur standard de première ligne en se basant sur les résultats des instituts nationaux de la santé (NIH). L'agence européenne des médicaments (EMA) refuse d'étendre l'indication au traitement de première ligne en association avec le traitement immunosuppresseur (23).

L'inconvénient majeur de l'eltrombopag est l'évolution clonale et le développement de nouvelles anomalies cytogénétiques. Une autre molécule prometteuse dénuée de cet inconvénient est le romiplostim. Les essais cliniques de phase II / III ont montré que ce médicament est efficace et bien toléré au cours des AMA réfractaires au traitement immunosuppresseur (24).

4.1.2. La greffe de CSH

La greffe de CSH est la seule option curative en cas d'AMA sévère ; d'une part elle restaure l'hématopoïèse normale et d'autre part elle élimine l'évolution clonale à long terme.

Outre le donneur apparenté (géno-identique ou haplo-identique), plusieurs donneurs alternatifs sont actuellement envisageables (donneur compatible non apparenté, sang du cordon) (25, 26).

La greffe de moelle osseuse offre un avantage de survie (moins de risque de la maladie du greffon contre l'hôte (GVHD) aiguë et chronique et un risque de rechute comparable) par rapport à celle de cellules souches périphériques (26).

Ces dernières années, le conditionnement a évolué. La combinaison de fludarabine, cyclophosphamide et SAL est largement utilisée pour la greffe géno-identique. En cas de donneur non apparenté, fludarabine, cyclophosphamide, SAL et l'irradiation corporelle totale sont aussi largement utilisés (25).

La prophylaxie standard de la GVHD est à base de CSA et de méthotrexate associés ou non au rituximab. L'introduction du cyclophosphamide en post transplantation en association avec CSA, SAL et mycophénolate mofétile a donné d'excellents résultats au cours de la greffe haploidentique (25).

4.1.3. Algorithme de traitement

En cas de donneur géno-identique et de patient âgé de moins de 40 ans, le patient atteint d'AMA sévère doit être allogreffer en urgence (dans les 100 premiers jours), afin d'améliorer le pronostic (5, 22).

Pour les patients âgés de 40 à 50 ans, une greffe de CSH peut être indiquée en première ligne en fonction de l'état général et de l'éligibilité du donneur. Cependant, à partir de cet âge, les complications en termes de toxicité et de mortalité liées à la greffe sont beaucoup plus importantes. La GVHD qui reste plutôt modérée chez le sujet de moins de 40 ans représente une crainte supplémentaire chez le sujet plus âgé (5, 22).

Pour les patients âgés de plus de 40-50 ans ou qui n'aient pas de donneur HLA identique, le traitement de référence est l'association SAL de cheval et CSA±eltrombopag (5, 22).

La greffe à partir d'un donneur non apparenté peut être indiquée en première intention chez les sujets jeunes de moins de 20 ans si elle est disponible dans les deux mois (22, 25). Les autres patients doivent recevoir le traitement immunosuppresseur (5, 22).

Le sang de cordon et le donneur haploidentique sont considérés en seconde intention chez les patients réfractaires à une première cure de traitement immunosuppresseur et sans donneur HLA compatible (26).

La greffe haploidentique est une approche en pleine expansion, qui a été évaluée au cours des AMA sévères réfractaires

au traitement immunosuppresseur ou en rechute mais également en première ligne chez les plus jeunes (25).

4.2. Le traitement de support

Les complications fatales les plus fréquentes chez les patients pancytopéniques sont les infections opportunistes et les hémorragies (8).

Le seuil de transfusion plaquettaire prophylactique est de $10 \cdot 10^9/L$ ou $20 \cdot 10^9/L$ en cas de fièvre ou de saignement. Certaines équipes recommandent un seuil de $30 \cdot 10^9/L$ durant l'administration du SAL (21).

Tous les produits sanguins doivent être déleucocytés et irradiés afin de réduire le risque d'alloimmunisation anti-HLA et de la GVHD post-transfusionnelle (8).

La surcharge en fer doit être régulièrement surveillée. Le traitement chélateur doit être initié dès que le fer hépatique dépasse 7 mg/g de poids sec ou en pratique lorsque la ferritinémie excède 1000 -1500 ng/L (27).

Les neutropénies fébriles constituent une urgence thérapeutique. Les patients doivent recevoir une antibiothérapie intraveineuse à large spectre et en cas de persistance de la fièvre un antifongique systémique. La transfusion de concentré de granulocyte est rarement utilisée mais elle peut être potentiellement salvatrice en cas d'infections sévères telles que les septicémies et les infections fongiques invasives (21). Le recours à la prophylaxie anti-infectieuse (antibiotique et antifongique) en cas d'AMA sévère est controversé (27).

La prophylaxie antivirale contre le virus Varicelle Zona et l'Herpès Simplex virus à base d'aciclovir ou de valaciclovir, doit être instaurée pendant et après le traitement par le SAL (21). Récemment, le letermovir a été approuvé dans la prévention contre la réactivation du Cytomégalovirus même chez les patients atteints de GVHD aiguë (28, 29).

La prophylaxie contre *Pneumocystis jirovecii* doit être maintenue durant la période de lymphopénie après SAL et idéalement à l'aide d'une molécule alternative au cotrimoxazole vu son effet myélosuppresseur. La pentamidine en aérosol est souvent utilisée (21, 27).

CONCLUSION

L'AMA est une entité rare dont le pronostic était sombre. Sa prise en charge a connu d'importants progrès notamment en termes de traitement de support. La prophylaxie anti-infectieuse et la chélation du fer, ont eu un impact considérable sur le pronostic de cette maladie. Outre le donneur apparenté (géno-identique ou haplo-identique), plusieurs donneurs alternatifs sont actuellement envisageables (donneur compatible non apparenté, sang du cordon). L'eltrombopag, un TPO-mimétique, a fait ses preuves dans la restauration de l'hématopoïèse. Toutefois, il est nécessaire d'être prudent quant à l'évolution clonale et aux complications à long terme associées à cette molécule.

REFERENCES

1. Schoettler ML, Nathan DG. The Pathophysiology of Acquired Aplastic Anemia: Current Concepts Revisited. *Hematol Oncol Clin North Am.* 2018; 32(4): 581–594.
2. Moore CA, Krishnan K. Aplastic Anemia. 2023 Jul 17. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. PMID: 30480951.
3. Shallis RM, Ahmad R, Zeidan AM. Aplastic anemia: Etiology, molecular pathogenesis, and emerging concepts. *Eur J Haematol.* 2018;101(6):711-720. doi: 10.1111/ejh.13153.
4. Vaht K, Göransson M, Carlson K, Isaksson C, Lenhoff S, Sandstedt A, *et al.* Incidence and outcome of acquired aplastic anemia real world data from patients diagnosed in Sweden from 2000-2011. *Haematologica.* 2017; 102(10):1683-1690.
5. Peffault de Latour P, Tichelli A. Traitement de l'aplasie médullaire idiopathique en 2015. *Rev. d'Oncologie Hematol. Pédiatr.*2015 ; 3: 139-144.
6. Sally B, Killick SB, Bown CN, Cavenagh J, Dokal I, Foukaneli T, *et al.* Guidelines for the diagnosis and management of adult aplastic anaemia. *Br. J. Haematol.* 2016; 172:187–207.
7. Austin G, Kulasekararaj AG, Mufti GJ, Marsh JCW. Bone marrow failure : causes and complications. *Medicine.* 2017;45(5):265-269.
8. Meyers G, Lachowicz C. Aplastic Anemia: Diagnosis and Treatment. *J Clin Outcomes Manag.* 2019 ; 26(5):229-240.
9. Dolberg OJ, Levy Y. Idiopathic aplastic anemia: Diagnostic and classification. *Autoimmun.* 2014;1 3:569-573.
10. Rovó A, Tichelli A, Dufour C. Diagnosis of Acquired Aplastic Anemia Bone Marrow Transplant. 2013 ; 48(2):162-7.
11. Socié, G., Xhaard, A., Robin, M., & Peffault de Latour, R. (2013). Aplasies médullaires acquises. *EMC- Hématologie*, 8(1), 1–12. doi:10.1016/s1155-1984(12) 60051-x .
12. Ranjima M, Gobbur RH. Severe Aplastic Anemia Secondary to SARS CoV-2 Infection- A Case Report. *J Pediatr Perinatol Child Health.* 2021; 5: 230-237.
13. Cecchi N, Giannotta JA, Barcellini W, Fattizzo B. A case of severe aplastic anaemia after SARS-CoV-2 vaccination. *Br J Haematol.* 2022; 196(6):1334-1336. doi: 10.1111/bjh.17947.
14. Tabata S, Hosoi H, Murata S, Takeda S, Mushino T, Sonoki T. Severe aplastic anemia after COVID-19 mRNA vaccination: Causality or coincidence? *J Autoimmun.* 2022; 126:102782. doi: 10.1016/j. jaut.2021.102782.
15. Benmoussa A, Aznag MA, Tissir R, Tazi I. L'aplasie médullaire acquise sévère et l'hépatite auto-immune séro-négative: une association rare et grave. *Pan Afr Med J.* 2019; 34:132.
16. Peslak SA, Olson T, Babushok DV. Diagnosis and Treatment of Aplastic Anemia. *Curr Treat Options Oncol.* 2017 ; 18(12): 70.
17. Medinger M, Drexler B, Lengerke C, Passweg J. Pathogenesis of Acquired Aplastic Anemia and the Role of the Bone Marrow Microenvironment. *Front. Oncol.* 2018; 8:587.
18. Deng XZ, Du M, Peng J, Long JX, Zheng CJ, Tan Y, *et al.* Associations between the HLA-A/B/DRB1 polymorphisms and aplastic anemia: evidence from 17 case-control studies. *Hematol.* 2018 ; 23(3):154-162.
19. Zaimoku Y, Takamatsu H, Hosomichi K, Ozawa T, Nakagawa N, Imi T *et al.* Identification of an HLA class I allele closely involved in the autoantigen presentation in acquired aplastic anemia. *Blood.* 2017; 129(21):2908-2916.
20. Dezern AE, Churpek JE. Approach to the diagnosis of aplastic anemia. *Blood Adv.* 2021; 5 (12): 2660–2671.
21. Pierri F, Dufour C. Management of aplastic anemia after failure of frontline immunosuppression. *Expert Rev Hematol.* 2019; 12(10):809-819.
22. Scheinberg P. Acquired severe aplastic anaemia: how medical therapy evolved in the 20th and 21st centuries. *Br J Haematol.* 2021;194(6):954-969.
23. Drexler B, Passweg J. Current evidence and the emerging role of eltrombopag in severe aplastic anemia. *Ther Adv Hematol.*2021;12:1–10.
24. Jang JH, Tomiyama Y, Miyazaki K, Nagafuji K, Usuki K, Uoshima N, *et al.* Efficacy and safety of romiplostim in refractory aplastic anaemia: a Phase II/III, multicentre, open-label study. *Br J Haematol.* 2021; 192(1):190-199.
25. Bacigalupo A, Benintende G. Bone marrow transplantation for acquired aplastic anemia: What's new. *Best Pract Res Clin Haematol.* 2021; 34(2):101284.
26. Bacigalupo A. How I treat acquired aplastic anemia. *Blood.* 2017;129 (11): 1428–1436.
27. Urbanowicz I, Nahaczewska W, Celuch B. Narrative review of aplastic anemia-the importance of supportive treatment. *Ann Palliat Med.* 2021; 10(1):694-699.
28. Wolfe D, Zhao Q, Siegel E, Puto M, Murphy D, Roddy J, *et al.* Letermovir Prophylaxis and Cytomegalovirus Reactivation in Adult Hematopoietic Cell Transplant Recipients with and without Acute Graft Versus Host Disease. *Cancers (Basel).* 2021; 13(21): 5572.
29. El Helou G, Razonable RR. Letermovir for the prevention of cytomegalovirus infection and disease in transplant recipients: an evidence-based review. *Infect Drug Resist.* 2019; 12: 1481–1491.

ARTICLE ORIGINAL

Evaluation du portage viral du SARS-CoV2 sur prélèvement nasopharyngé après trois périodes d'isolement différentes de 14, 10 et 5 jours

Evaluation of SARS-CoV2 viral carriage on nasopharyngeal swab after three different isolation periods of 14, 10 and 5 days

Eya Samaali^{1,2}
Mariem Gdoura^{1,2,3}
Amira Chortani⁴
Donia Sahli¹
Habib Halouani¹
Amal Chaabouni¹
Amel Sadraoui^{2,3}
Walid Hammemi^{2,3}
Henda Touzi^{2,3}
Zina Medeb^{2,3}
Nahed Hogga^{2,3}
Henda Triki^{2,3}

- ¹ Faculté de Pharmacie de Monastir, Université de Monastir, Monastir 5000, Tunisie
- ² Laboratoire de Virologie Clinique, Institut Pasteur de Tunis, Université Tunis El Manar, Tunis 1002, Tunisie
- ³ Laboratoire de recherche «Virus, Vecteurs et Hôtes: Approche « One Health » et innovation technologique pour une santé meilleure » LR20IPT02, Institut Pasteur de Tunis, Université Tunis El Manar, Tunis 1002, Tunisie
- ⁴ Institut Supérieur des Technologies Médicales de Tunis, Université de Tunis El Manar, Tunis 1068, Tunisie

Soumis le 6 septembre 2022
accepté le 19 février 2023

Auteur correspondant :
Dr Eya Samaali

Adresse :
Laboratoire de Virologie Clinique,
Institut Pasteur de Tunis, Université
Tunis El Manar, Tunis 1002, Tunisie

Courriel :
eyasamaali18@gmail.com

Résumé

Introduction : Au cours de la pandémie COVID-19, la Tunisie s'est alignée aux recommandations internationales en termes de stratégies de dépistage, d'isolement et de levée d'isolement. Au fil des différentes poussées épidémiologiques, la période d'isolement a été baissée à deux reprises, de 14 à 10 jours, dans un premier temps, en novembre 2021, puis de 10 à 5 jours, dans un deuxième temps, en janvier 2022. Nous nous sommes proposés d'évaluer la clairance virale à la fin de ces différentes périodes d'isolement et de discuter nos résultats en fonction des variants du SARS-CoV2 qui circulent et de l'avancement de la vaccination anti-SARS-CoV2.

Matériel et méthodes :

Nous avons mené une étude prospective entre le 1^{er} septembre 2020 et le 31 mars 2022 sur 3 groupes du personnel de l'Institut Pasteur de Tunis et leurs membres de famille, infectés au SARS-CoV2. Les 3 groupes G1, G2 et G3 ont été prélevés après l'achèvement de la période d'isolement en vigueur ; de 14, 10 et 5 jours, respectivement. Il s'agit de prélèvements nasopharyngés qui ont été testés par RT-PCR en temps réel au laboratoire de virologie clinique de l'IPT. Les résultats des RT-PCR et les valeurs de Ct ont été analysés statistiquement par le logiciel SPSS.

Résultats : Un total de 128 patients a été inclus dans cette étude et répartis comme suit : n=46 pour G1, n=44 pour G2 et n=38 pour G3. La proportion des patients négatifs est plus importante dans G1 tandis que la proportion des positifs est la plus importante dans G3. Aucune différence significative n'a été retrouvée entre les proportions de positifs ayant des valeurs de Ct <30 entre le G1 et le G2. Pour le G1, la moyenne des valeurs de Ct est de 33,7±2,9, pour le G2, la moyenne des valeurs de Ct est de 28,8±2,7, et pour le G3, la moyenne des valeurs de Ct est de 22,8±4,5. Les différences sont significatives d'un groupe à l'autre.

Discussion : Nos résultats suggèrent que le fait d'isoler les patients pendant 10 jours garantissait une reprise des activités avec un portage viral très faible associé à un risque de dissémination viral négligeable. Toutefois, la reprise après 5 jours semble constituer un risque de contagion non négligeable, sachant que le variant Omicron et ses sous-variants qui circulaient sont extrêmement contagieux dans un contexte d'immunité de groupe incomplète.

Mots-clés : SARS-CoV2, pandémie, COVID-19, isolement, vague, variants, clairance virale

Abstract

Introduction: During the COVID-19 pandemic, Tunisia aligned with international recommendations in terms of screening, isolation, and release strategies. During the different epidemiological outbreaks, the isolation period has been reviewed twice, from 14 to 10 days, in a first step, in November 2021, and from 10 to 5 days, in a second step, in January 2022. We proposed to assess viral clearance at the end of these different isolation periods and to discuss our results in relation to circulating SARS-CoV2 variants while contextualizing with the vaccine context.

Materials and methods: We conducted a prospective study between September 1, 2020, and March 31, 2022, on 3 groups of patients. The 3 groups G1, G2 and G3 were collected after the completion of the current isolation period: 14, 10 and 5 days, respectively. These nasopharyngeal swabs were tested by real-time RT-PCR at the clinical virology laboratory of the IPT. RT-PCR results and Ct values were statistically analyzed by SPSS software.

Results: A total of 128 patients were included in this study distributed as follows: n=46 for G1, n=44 for G2 and n=38 for G3. The proportion of negative patients at the end of isolation was the highest in G1 while the proportion of positive patients was the highest in G3. No significant difference was found between the proportions of positives with Ct values <30 between G1 and G2. The average of Ct values was 33,7 ± 2,9, 28,8 ± 2,7 and 22,8±4,5 for G1, G2 and G3, respectively. The differences were statistically significant from one group to another.

Discussion: Our results suggest that isolating patients for 10 days guaranteed a resumption of activities with very low viral carriage associated with a negligible risk of viral dissemination. However, the recovery after 5 days appeared to be risky, knowing that the Omicron variant and its circulating sub-variants are extremely contagious in a context of incomplete herd immunity.

Keywords: SARS-CoV2, pandemic, COVID-19, isolation, wave, variants, viral clearance

INTRODUCTION

A l'instar de tous les pays du monde, la Tunisie n'a pas été épargnée par la pandémie COVID-19, une maladie causée par le *severe acute respiratory syndrome coronavirus 2* (SARS-CoV2). Le premier cas importé a été détecté le 2 mars 2020, il a été rapidement suivi par une première vague épidémique de cas contacts avec des cas importés. En effet, la vague a été très efficacement jugulée grâce à des mesures d'isolement drastiques reposant principalement sur l'application d'un confinement général de la population. Au début, on appliquait un isolement obligatoire des patients COVID-19 positifs dans des centres de confinement contrôlés par les autorités sanitaires tunisiennes. Suivant les recommandations de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), le patient ne peut quitter le centre qu'après y avoir séjourné 14 jours au minimum suivis de l'obtention de deux tests négatifs de réaction de polymérisation en chaîne précédée par une transcription réverse en temps réel (RT-PCR), espacés de 24 à 48h d'intervalle. Ces mesures n'ont pas tardé à avoir des conséquences négatives sur le plan économique et social (1, 2). Par ailleurs, les laboratoires référents de virologie clinique sur tout le territoire tunisien ont dû gérer un très grand nombre de tests RT-PCR quotidiennement, sans oublier les obstacles d'approvisionnement rencontrés devant la fermeture des frontières de plusieurs pays ainsi que la pénurie mondiale des réactifs d'extraction et d'amplification.

Tenant compte de cette crise mondiale sans précédent et en ayant de plus en plus de connaissances scientifiques en matière de dynamique virale, de contagiosité et de transmission, les instances sanitaires internationales comme l'OMS n'ont pas cessé de discuter de la pertinence de cette stratégie d'isolement et de levée d'isolement et ont révisé à la baisse le nombre de jours d'isolement tout en annulant les tests RT-PCR de contrôle à la fin d'isolement(3).

Conformément aux recommandations internationales, la période d'isolement en Tunisie est passée de 14 à 10 jours en Novembre 2021, dans un premier temps, ce qui correspondait à la deuxième vague épidémiologique (4), puis à 5 jours, en Janvier 2022, dans un deuxième temps, ce qui correspondait à la cinquième vague épidémique (5). Etant donné l'abandon des tests RT-PCR de contrôle, on ignorait la durée de la persistance du portage viral chez les patients COVID-19 positifs à l'achèvement de la période d'isolement réglementaire. Hormis certaines études prospectives de suivi de la dynamique virale sur un échantillon présélectionné de patients, surtout du milieu hospitalier, la littérature reste pauvre.

Dans cette optique, nous nous sommes proposés de mener une étude prospective pour le suivi de la dynamique de la charge virale à l'achèvement de la période d'isolement de 14 jours, puis l'étude a été poursuivie

quand cette période a été remplacée par 10 jours dans un premier temps puis par 5 jours. On a ainsi travaillé sur trois groupes de patients différents. Notre objectif était d'évaluer la proportion de patients encore positifs après l'écoulement de la période d'isolement et de discuter les durées des périodes d'isolement tout en tenant compte des variants circulant et de l'avancement de la vaccination anti-SARS-CoV2.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Il s'agit d'une étude prospective réalisée au laboratoire de Virologie Clinique de l'Institut Pasteur de Tunis (IPT) entre le 1^{er} septembre 2020 et le 31 mars 2022. L'étude a été menée auprès du personnel de l'IPT et des membres de leur famille (ascendants, conjoints et descendants) ayant été diagnostiqués COVID-19 positifs par RT-PCR sur prélèvement nasopharyngé. Ces patients ont été dépistés soit à la suite de l'apparition de signes cliniques évocateurs de la COVID-19 soit dans le cadre du dépistage dans les contacts des cas positifs. Trois groupes de patients sur trois vagues épidémiques différentes ont été sélectionnés. Ces patients reviennent pour une RT-PCR de contrôle dès que la période d'isolement en application est achevée, en tolérant au maximum 48h de plus pour faire ce contrôle. Le groupe 1 (G1) a été suivi au cours de la deuxième vague épidémique quand on appliquait à l'IPT la période d'isolement de 14 jours ; le groupe 2 (G2) a été suivi au cours de la troisième et la quatrième vague épidémique, lorsque la période d'isolement de 10 jours était de rigueur et le groupe 3 (G3) a été suivi au cours de la cinquième vague épidémique lorsque cette dernière était de 5 jours. La Figure 1 représente la période correspondant à chaque groupe de patients projetée en fonction des différentes vagues que la Tunisie a connues (6).

Tous les patients ont été adressés à la salle de prélèvement de l'IPT pour bénéficier d'un prélèvement nasopharyngé, ils étaient appelés à remplir une fiche de renseignement regroupant les données sociodémographiques et à signer un consentement pour participer à l'étude. Ont été exclus de l'étude tous les patients qui ont refusé de participer, qui n'ont pas signé le consentement, qui n'ont pas eu une RT-PCR de contrôle ainsi que ceux ayant eu une RT-PCR de contrôle très tardive par rapport à la fin de la période d'isolement. Les prélèvements ont été acheminés en triple emballage au laboratoire de biosécurité niveau 3 (P3) de l'IPT. L'extraction de l'ARN viral a été réalisée par le kit QIAamp viral RNA mini (QIAGEN[®], Allemagne). L'amplification et la détection des gènes spécifiques du SARS-CoV2 ont été effectuées sur le thermocycleur BIO-RAD, CFX96[™]. Pour les prélèvements des G1 et G2, un protocole monoplex maison recommandé par l'OMS a été utilisé, c'est le HKU (Hong Kong University) (7) ciblant

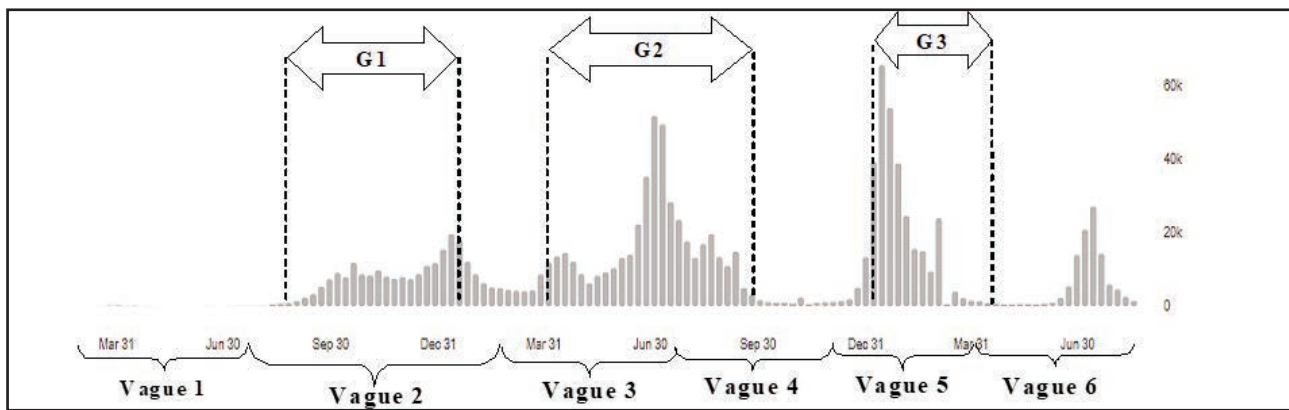


Figure 1 :Les trois groupes de patients suivi dans l'étude prospective

les gènes N (nucléocapside) et ORF1b (Open Reading Frame). Chacune des réactions est effectuée en mono-plex et ce test ne présente pas de contrôle interne. La limite de détection de ce test est de 10 copies/mL (8). Pour les prélèvements du G3, et vu l'épuisement du test HKU, un test commercial le BioSpeedy® (BIOEKSEN®, Turquie) approuvé par la Food and Drug Administration a été utilisé (9). Celui-ci cible, en multiplex le gène N, le gène ORF1ab spécifique du SARS-CoV2 tout comme le HKU mais en plus le gène de la ribonucléase P (Rnase P) humain considéré comme contrôle interne endogène. Ce test est multiplexe et sa limite de détection est de 20 copies/mL, comparable au test HKU (10). Un résultat est considéré comme positif lorsque la cible génomique spécifique est amplifiée en donnant une courbe sigmoïde typique coupant la ligne seuil à un cycle *threshold* (Ct) inférieur à 40. Pour les

besoins de cette étude, nous avons également collecté les informations en rapport avec les variants qui circulent en Tunisie et l'état d'avancement en matière de vaccination pour les trois périodes.

Tous les résultats ont été saisis sur une feuille de calcul SPSS qui a permis d'établir les calculs de pourcentages, de proportions, de moyennes, de déviations standards, de faire le test Chi2 de comparaison de proportion et de comparaison de moyennes, de tracer les différentes figures. Une valeur de *p* inférieure à 0,05 a été retenue comme statistiquement significative.

RÉSULTATS

Un total de 128 patients a été inclus dans cette étude répartis comme suit : n=46 pour G1, n=44 pour G2 et n=38 pour G3. Le tableau 1 résume les données socio-démographiques des patients recrutés ainsi que leur

Tableau 1 : les données socio-démographiques des patients et leur période de confinement

	Groupe 1	Groupe2	Groupe 3
Nombre de patients	46	44	38
Sexe des patients	Femmes : 73,9% (n=34) Hommes : 26,1% (n=12)	Femmes : 68,2% (n=30) Hommes : 31,8% (n=14)	Femmes : 71,1% (n=27) Hommes : 28,9% (n=11)
Sex-ratio F/M	0,35	0,46	0,4
Age moyen des patients	Moyen : 47,7 ans ±σ 14,9 Médiane : 42 [12, 82]	Moyen : 42,3 ans ±σ 15,8 Médiane : 40 [16, 75]	Moyen : 37,9 ans ± 14,7 Médiane : 34 [16, 74]
Durée de l'étude	4 mois	5 mois	3 mois
Période de l'étude	01 Sept - 31 Décembre 2020	01 Avril - 31 Aout 2021	01 Janvier – 31 Mars 2022
Variant majoritairement circulants	Seconde vague (10) : Beta B.1.351 et beaucoup d'autres variants d'intérêt	Troisième vague (10) : VOC : Alpha B.1.1.7, Zeta P.2, Delta VOI : A.27	Quatrième vague (11) VOC : Delta Omicron BA.1 Omicron BA.2 Omicron BA.4 Omicron BA.5
Période de confinement obligatoire selon la réglementation en vigueur		10 jours (5)	5 jours (6)
Vaccination	Pas encore en Tunisie	Début de la vaccination du personnel de la santé et les groupes prioritaires, organisation de xxx campagnes de vaccination par plusieurs types	Vaccination généralisée (12)

VOI : Variant of interest, VUM : variant under monitoring, VOC : variant of concern

période d'isolement. Les 3 groupes sont composés de plus de femmes que d'hommes, reflétés par des *sex ratios* M/F inférieurs à 1 (0,35; 0,46 et 0,4 pour G1, G2 et G3 respectivement). La distribution des sexes est similaire entre les 3 groupes ($p>0,05$). Pour les âges, il s'agit de 3 groupes de patients qui sont majoritairement des adultes jeunes avec des moyennes d'âges statistiquement similaires entre G1 et G2 et entre G2 et G3 ($p>0,05$). La comparaison des âges entre G1 et G3 a montré que le G3 est relativement plus jeune que le G1 ($p<0,05$). La Figure 2 illustre les proportions de patients positifs et négatifs retrouvés pour les RT-PCR de contrôle. Pour G1, la proportion des patients négatifs ($n=30$; 65,2%) est significativement plus importante que la pro-

portion des positifs ($n=16$; 34,8%) ($p<0,05$). Pour G2, il n'y a pas de différence significative entre les proportions de positifs ($n=21$; 47,7%) et de négatifs ($n=23$; 52,3%) ($p>0,05$). En ce qui concerne le G3, la proportion majoritaire est faite de patients positifs ($n=25$; 65,8%), les négatifs étaient minoritaires ($n=13$; 34,2%) ($p<0,05$). La proportion des négatifs la plus importante est celle du G1, tandis que la proportion des positifs la plus importante appartenait au G3. La courbe de tendance des patients positifs est linéaire, elle montre une augmentation des patients qui sont encore positifs du G1 au G3 avec le raccourcissement de la période d'isolement de 14 à 5 jours ($R^2=0,9907$, Figure 2).

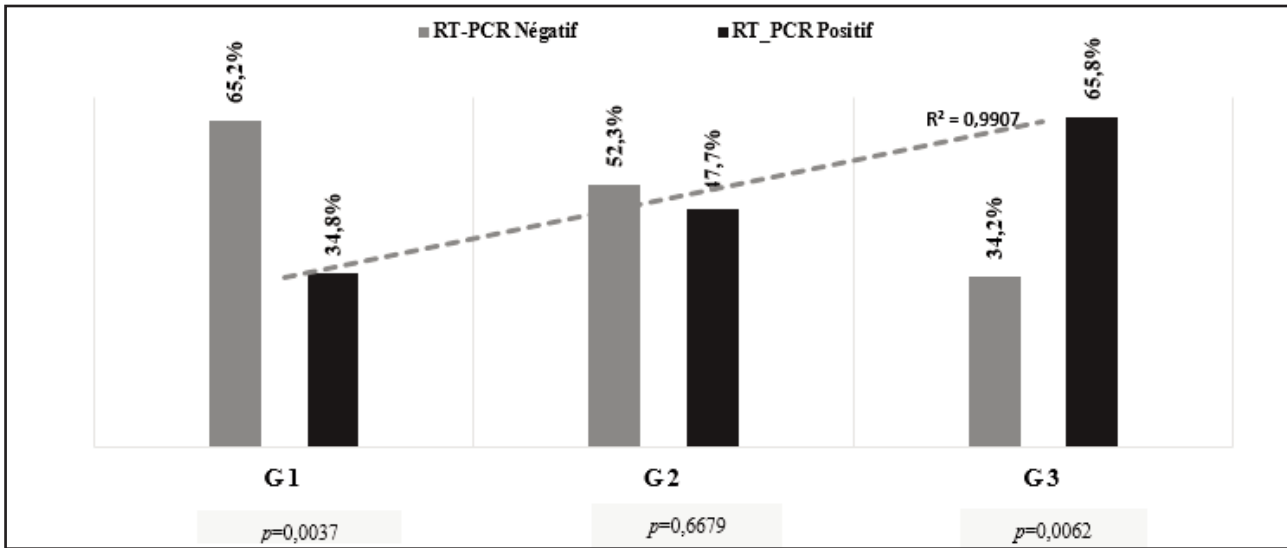


Figure 2 : Résultats des RT-PCR positifs et négatifs pour les 3 groupes à la fin de la période d'isolement

Pour les patients encore positifs à la fin de la période de confinement, les valeurs de Ct obtenues avec la cible génomique la plus sensible sont représentées sous forme de nuages de points des valeurs de Ct obtenues (Figure 3). Pour le G1, la moyenne des valeurs de Ct est de $33,7\pm 2,9$, pour le G2, la moyenne des valeurs de Ct est de $28,8\pm 2,7$, et pour le G3, la moyenne des valeurs de Ct est de $22,8\pm 4,5$. En comparant ces résultats entre les 3 groupes nous avons trouvé que les patients encore positifs du G1 ont des charges virales statistiquement plus faibles que ceux du G2 ($p=10^{-4}$) ainsi que de ceux du G3 ($p<10^{-4}$), de même, les patients encore positifs du G2 ont des charges virales statistiquement plus faibles que ceux du G3 ($p<10^{-4}$).

Les patients des 3 groupes ont été stratifiés en fonction de la valeur de Ct de 30 ; nous avons de ce fait individualisé un sous-groupe de patients ayant des valeurs de Ct <30, traduisant des charges virales élevées. Le reste des patients par groupe est ainsi composé de patients ayant des valeurs de Ct >30 et de patients négatifs. Les

deux sous-groupes sont représentés dans la Figure 4. Dans les groupes G1 et G2, seulement 2 (4,4%) et 7 (15,9%) patients ont des valeurs de Ct<30, alors que, dans le G3, 23 patients (60,5%) ont des valeurs de Ct<30. Les proportions de ces sous-groupes entre les trois groupes, sont statistiquement similaires entre le G1 et le G2 ($p>0,05$). Toutefois, pour le G3 cette proportion est statistiquement plus importante que les autres groupes ($p<10^{-4}$ pour les 2).

DISCUSSION

Afin de rompre les chaînes de transmission du virus SARS-CoV2, le moyen le plus efficace consistait à isoler correctement le patient porteur du virus pendant toute la durée de ce portage. Aujourd'hui, après plus de 2 ans depuis la déclaration de la pandémie COVID-19, de nombreuses données scientifiques sont devenues disponibles ce qui permet d'évaluer objectivement les différentes stratégies d'isolement et de mise en quarantaine prises par les autorités sanitaires nationales et internatio-

nales. Il est vrai que ces mesures ont été régulièrement adaptées à la situation épidémique du pays, aux caractéristiques virologiques des variants qui circulent et au niveau de la couverture vaccinale atteint, mais des considérations socio-économiques ont également été prises en compte. En effet, un comité scientifique national de lutte contre la COVID-19, relevant du ministère de la santé de Tunisie, se réunit régulièrement pour évaluer et prédire les tendances épidémiques avant de se prononcer sur les décisions les plus adéquates. Dans ce sens, la période d'isolement des patients testés positifs au SARS-CoV2, initialement de 14 jours, a été révisée à la baisse à deux reprises ; de 14 à 10 jours en septembre 2020 puis de 10 à 5 jours en janvier 2022. C'est dans ce contexte que notre étude a été conduite et dont l'objectif était d'évaluer la dynamique de la clairance virale dans 3 échantillons de patients à l'achèvement de 3 périodes d'isolement différentes; de 14, 10 ou 5 jours. A notre connaissance, les études similaires sont rares dans la littérature vu l'annulation des tests RT-PCR de contrôle. Notre étude a montré que l'isolement de 10 jours est plus prudent en termes de risque de contagion quand on se base sur la positivité de la RT-PCR en fin d'isolement. Toutefois, une proportion importante de patients qui reprennent leur activité après 5 jours uniquement d'isolement sont encore RT-PCR positifs avec des charges virales encore élevées, rendant le risque de contagion non négligeable. Nous avons discuté nos résultats en fonction des caractéristiques des variants qui circulent pendant les 3 périodes d'étude (VOC pour Variant of concern) Alpha, Delta et Omicron ainsi qu'en fonction du taux de la couverture vaccinale anti-SARS-CoV2 contemporain à chaque période.

Les tests de RT-PCR représentaient la pierre angulaire dans le dépistage de l'infection au SARS-CoV2, ils étaient objet de plusieurs études d'évaluation et de comparaison (11, 12). Alors qu'au départ les tests étaient publiés dans des articles et les laboratoires étaient obligés de commander les amorces et les sondes et de mener des optimi-

sations pour chaque protocole, aujourd'hui il existe une multitude de tests commerciaux très faciles à utiliser.

Pour les trois groupes d'étude, les valeurs de Ct des patients encore positifs à la RT-PCR de contrôle ont été relevées et étudiées. Sachant que la valeur de Ct est inversement proportionnelle à la charge virale retrouvée dans le prélèvement, beaucoup d'études ont tenté d'harmoniser l'interprétation des résultats en fonction de cette valeur. A titre d'exemple, la Haute autorité de Santé de France a recommandé, en janvier 2021, de considérer les patients positifs ayant des valeurs de Ct au-delà de 33 comme étant positifs faibles, donc peu ou pas contagieux, tandis que ceux ayant des valeurs de Ct inférieures à 33 devraient être considérés comme disséminateurs potentiels de virus infectieux et donc contagieux. Beaucoup d'études ont évalué la viabilité du virus par isolement sur cultures de cellules et ont proposé des seuils de valeur de Ct de 33, 30 ou même 24 (13-15). Dans le présent travail, nous avons considéré que les patients positifs ayant des valeurs de Ct supérieures ou égales à 30 comme étant faiblement infectieux et ne présentent pas de risque de contagion.

Pour les patients du G1, la proportion des patients négatifs à la fin de l'isolement de 14 jours était significativement plus importante que celle des positifs (Figure 2) qui avaient des charges virales très faibles. Par conséquent, cette stratégie serait la plus sûre mais elle est plus contraignante pour le patient et plus lourde sur le plan socio-économique. Passant aux patients du G2 qui ont observé des périodes d'isolement de 10 jours, aucune différence statistiquement significative n'a été retrouvée en termes de positivité de la PCR, en comparaison avec les patients du G1 (Figure 2). La proportion des patients ayant des Ct < 30 est également similaire entre le G1 et le G2, ce qui suggère que l'isolement des patients pendant 4 jours supplémentaires n'a pas apporté de sécurité supplémentaire. Cependant, la moyenne des valeurs de Ct des patients encore positifs dans le G2 était de $28,8 \pm 2,7$ (Figure 3), donc inférieure à celle du G1, traduisant

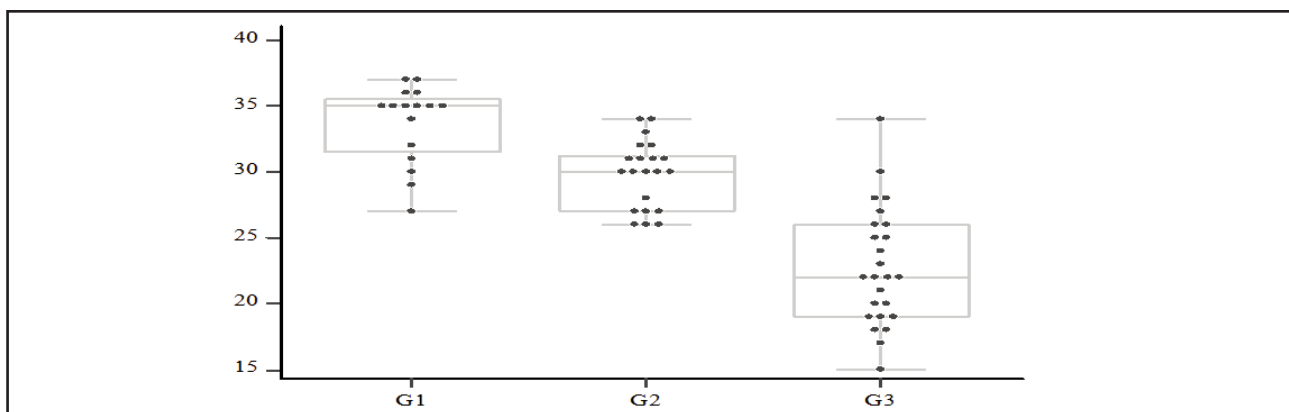


Figure 3 : Nuages de points des valeurs de Ct des patients encore positifs à la fin de la période d'isolement pour les 3 groupes

des charges virales significativement plus importantes et un risque théorique d'excrétion d'un virus viable plus important (Figure 4). En ce qui concerne le G3, nous

avons trouvé qu'après l'achèvement de 5 jours d'isolement, la majorité des patients hébergeaient encore le virus avec un taux de positivité élevé. Parmi ces positifs,

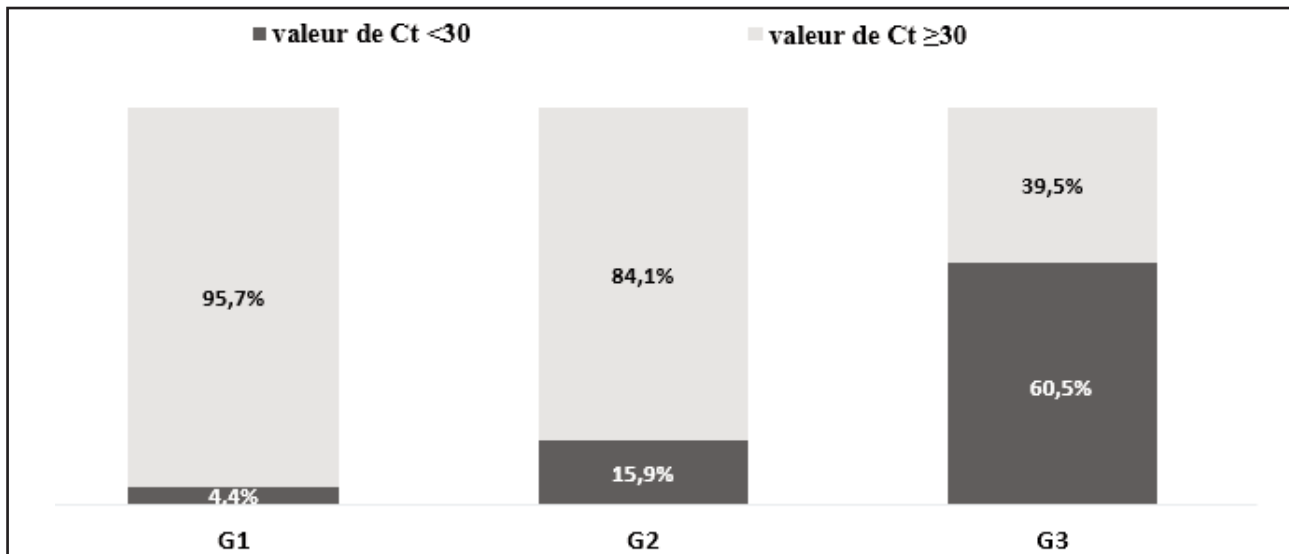


Figure 4 : Distribution des patients en fonction de la valeur de Ct à fin de la période d'isolement

les charges virales étaient également élevées avec des valeurs de Ct d'une moyenne de $22,8 \pm 4,5$ (Figure 3). Ainsi, le risque de contagion était élevé pour 60,5% des patients en fin d'isolement. Cette proportion était nettement supérieure à celles des groupes G1 et G2. Ceci sous-entend que la période d'isolement de 5 jours semble être insuffisante pour que le patient élimine le virus de ses voies respiratoires. Au final, en nous basant sur notre échantillon, nos résultats suggèrent qu'un isolement de 10 jours donnait des résultats similaires à celui de 14 jours, tandis que l'isolement de 5 jours semble être insuffisant. Nos résultats corroborent ceux de Singanayagam *et al.* qui a montré qu'après 10 jours du début des symptômes, 6% seulement des patients avaient un portage viral cultivable (16). D'après Fredj *et al.* environ 10 jours sont nécessaire pour éliminer le virus selon un modèle mathématiques tunisien (17). Pendant la période de l'étude de ce travail, qui s'est étendue du 1er septembre 2020 au 31 mars 2022, plusieurs variants du SARS-CoV-2 ont émergé dans le monde et ont été introduits en Tunisie, parallèlement au début et au renforcement de la vaccination anti-SARS-CoV-2 dans notre pays. Ces deux facteurs doivent être pris en compte, en plus de l'interprétation brute des résultats des RT-PCR de contrôle détaillés ci-dessus, pour évaluer l'efficacité des stratégies de levée d'isolement correspondantes à chaque période. En effet, tandis que pour la période d'étude du G1, il n'y avait pas encore de variants préoccupants, et que la vaccination contre le SARS-CoV-2 n'avait pas encore été lancée en Tunisie, les périodes d'étude des G2 et G3 étaient mar-

quées par une forte co-circulation des variants préoccupants, notamment Alpha et Delta pour le G2, et Delta et Omicron pour le G3 (Tableau1), avec en parallèle, plusieurs campagnes de vaccination massives (18, 19). En regardant de plus près, on constate que les études de phylogénie ont montré que ces variants présentent un nombre élevé de mutations dans la protéine de l'enveloppe, appelée « spike », ce qui favorise l'entrée du virus dans les cellules par le biais de l'enzyme de conversion de l'angiotensine-2 (ACE2). Les mutations apparues dans le domaine de liaison aux récepteurs RBD (*Receptor Binding Domain*) de la protéine « spike » sont préoccupantes en raison de la capacité du virus à échapper aux anticorps neutralisants déclenchés par une infection antérieure et par les vaccins (20-22). Toutes ces mutations ont affecté la capacité de transmission des virus, ainsi que leur capacité à échapper à l'immunité après une infection ou une vaccination antérieure. (23). Les deux VOCs (Alpha et Delta) ont circulé pendant la période d'étude du G2, du 1^{er} avril au 31 août 2021, pendant laquelle la période d'isolement était fixée à 10 jours. Par ailleurs, la vaccination avait à peine démarré chez les populations prioritaires à savoir le personnel de la santé et les patients poly-tarés de plus de 60 ans. Bien que la vaccination anti-SARS-CoV2 soit un outil puissant pour freiner la propagation du virus, il était encore trop tôt pour parler d'une immunité de groupe à cette période, en sachant que les vaccins utilisés n'avaient pas tous la même efficacité (24). C'est pourquoi les patients qui ont repris leurs activités après un isolement de 10 jours à cette époque et qui étaient toujours positifs

auraient pu contribuer à la dissémination du virus SARS-CoV-2 dans leur entourage familial, professionnel et social, composé de personnes encore susceptibles au virus. En effet, au 1er avril 2021, seuls 66 349 individus avaient reçu une dose de vaccin en Tunisie, contre 4 202 693 vaccinés au 31 août 2022, dont seulement 18,1 % avaient reçu une vaccination complète (25).

En ce qui concerne le VOC « Omicron » qui a marqué la période d'étude du G3, il a été rapporté qu'il possède une capacité de transmission très élevée, environ 3,2 fois supérieure à celle du variant « Delta » (26). Initialement en co-circulation avec le Delta, il a rapidement pris le dessus, notamment avec certains de ses sous-variants tels que le BA.2, qui était encore plus transmissible (27). Au cours de cette vague, le nombre de personnes vaccinées s'améliorait jour après jour en Tunisie, avec un taux de vaccination complète de 53,16 % atteint au 21 mars 2022 (25). Ceci a été rendu possible grâce à la disponibilité des vaccins en Tunisie, surtout les vaccins à ARNm (Pfizer® et Moderna®), mais aussi après l'obligation de la présentation du passeport vaccinal dans les espaces publics et privés conformément au décret présidentiel du décembre 2021 (28). Pour le G3, la période d'isolement a été raccourcie à 5 jours, pour tous les patients positifs au SARS-CoV2, sans obligation de faire un test de RT-PCR à la reprise. Il est vrai que de nombreuses autres instances sanitaires dans le monde ont également procédé à un allègement considérable de la période d'isolement, à l'instar du Centers for Disease Control and Prevention des États-Unis (CDC), mais leur approche était plutôt ciblée et plus prudente (29). Ainsi, en France (30), il a été recommandé un isolement de 7

jours pour les patients complètement vaccinés, contre 10 jours pour les patients non vaccinés ou incomplètement vaccinés, avec la possibilité de réduire la période d'isolement si le patient présente un résultat négatif au test rapide antigénique ou RT-PCR depuis 48 heures, à 5 et 7 jours, respectivement. En janvier 2022, le taux de vaccination en Tunisie a atteint 49,71% (25), ce qui semble encore loin du seuil de 60% proposé par une équipe française pour pouvoir envisager une immunité de groupe capable de contrôler l'épidémie (31). Nos résultats ont bien montré qu'il semblait insuffisant de lever l'isolement après 5 jours seulement d'isolement.

Au final, les résultats de notre étude se sont appuyés sur les résultats de la RT-PCR de contrôle en fin de confinement, conformément aux recommandations des circulaires du ministère de la santé, et ont montré qu'un isolement de 10 jours des patients testés positifs au COVID-19 semble être efficace pour éliminer le virus des voies nasales et contribuer à rompre les chaînes de transmission locales. Nos données doivent être confirmées par des modèles mathématiques dynamiques combinant le taux de couverture vaccinale et les caractéristiques intrinsèques des variants qui circulent, en utilisant un échantillon de patients plus vaste et plus représentatif de la population.

REMERCIEMENTS

Les auteurs adressent leurs vifs remerciements à Dr Mehdi Mrad, Dr Melika Ben Ahmed, Dr Imen Kraiem et Dr Radhia Ammi pour leurs efforts dans le suivi des patients infectés par le SARS-CoV 2 et inclus dans le présent travail.

REFERENCES

1. Alradhawi M, Shubber N, Sheppard J, Ali Y. Effects of the COVID-19 pandemic on mental well-being amongst individuals in society- A letter to the editor on «The socio-economic implications of the coronavirus and COVID-19 pandemic: A review». *International journal of surgery* (London, England). 2020;78:147-148.
2. Ganesan B, Al-Jumaily A, Fong KNK, Prasad P, Meena SK, Tong RK. Impact of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak Quarantine, Isolation, and Lockdown Policies on Mental Health and Suicide. *Front Psychiatry*. 2021 ;12:565190. doi: 10.3389/fpsy.2021.565190.
3. Organisation mondiale de la Santé O. Recherche des contacts et placement en quarantaine dans le contexte du variant Omicron du SARS-CoV-2: orientations provisoires, 17 février 2022. Organisation mondiale de la Santé, 2022.p10 Disponible sur : WHO/2019-nCoV/Contact_tracing_and_quarantine/Omicron_variant/2022.1 [En lignes] Consulté le 06/09/2022
4. CIRCULAIRE 57 du Ministère de la santé publique 2022. Disponible sur: <http://www.santetunisie.rns.tn/images/docs/anis/cir2016/cir964.pdf>. [En lignes] Consulté le 06/09/2022
5. La page du Ministère de la santé publique MSP. 2022. Disponible sur : <https://www.facebook.com/photo.php?fbid=301468928690243&set=pb.100064814133582.-2207520000.&type=3>. [En lignes] Consulté le 06/09/2022
6. WHO. COVID-19 CASES BY MONTH 2022. Disponible sur : <https://covid19.who.int/region/emro/country/tn>. [En lignes] Consulté le 06/09/2022
7. HKU. Hong Kong University Detection of 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) in suspected human cases by RT-PCR 2020. Disponible sur: <https://www.who.int/docs/default-source/coronaviruse/peiris-protocol-16-1-20.pdf>. [En lignes] Consulté le 06/09/2022
8. Chu DKW, Pan Y, Cheng SMS, Hui KPY, Krishnan P, Liu Y, *et al*. Molecular Diagnosis of a Novel Coronavirus (2019-nCoV) Causing an Outbreak of Pneumonia. *Clinical Chemistry*. 2020;66(4):549-555.

9. FDA. Bio-Speedy® Direct RT-qPCR SARS-CoV-2 Disponible sur : <https://www.fda.gov/media/141823/download>. [En lignes] Consulté le 06/09/2022
10. Bioeksen. Technical details. Disponible sur : <https://www.bioeksen.com.tr/products/covid-19/covid-19-solutions/sars-cov-2-rt-qpcr-solutions>. [En lignes] Consulté le 06/09/2022
11. Gdoura M, Abouda I, Mrad M, Ben Dhifallah I, Belaiba Z, Fares W, *et al.* SARS-CoV2 RT-PCR assays: In vitro comparison of 4 WHO approved protocols on clinical specimens and its implications for real laboratory practice through variant emergence. *Virol J.* 2022;19(1):54. doi: 10.1186/s12985-022-01784-4. .
12. Etievant S, Bal A, Escuret V, Brengel-Pesce K, Bouscambert M, Cheynet V, *et al.* Sensitivity assessment of SARS-CoV-2 PCR assays developed by WHO referral laboratories. *medRxiv.* 2020; doi:10.1101/2020.05.03.20072207
13. Bullard J, Dust K, Funk D, Strong JE, Alexander D, Garnett L, *et al.* Predicting Infectious Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 From Diagnostic Samples. *Clinical Infectious Diseases.* 2020;71 (10):2663-2666.
14. Sikka R, Wyllie AL, Premisrur P, Berke EM. COVID Testing in the Workplace: Return to Work Testing in an Occupational Cohort. *medRxiv.* 2022:2022.02.09.22270653.
15. Rueda-Garrido JC, Vicente-Herrero MT, del Campo MT, Reinoso-Barbero L, de la Hoz RE, Delclos GL, *et al.* Return to work guidelines for the COVID-19 pandemic. *Occupational Medicine.* 2020;70(5):300-305.
16. Singanayagam A, Patel M, Charlett A, Lopez Bernal J, Saliba V, Ellis J, *et al.* Duration of infectiousness and correlation with RT-PCR cycle threshold values in cases of COVID-19, England, January to May 2020. *Eurosurveillance.* 2020;25(32):2001483.
17. Fredj HB, Chérif F. Novel Corona virus disease infection in Tunisia: Mathematical model and the impact of the quarantine strategy. *Chaos, Solitons & Fractals.* 2020;138:109969.
18. Chouikha A, Fares W, Laamari A, Haddad-Boubaker S, Belaiba Z, Ghedira K, *et al.* Molecular Epidemiology of SARS-CoV-2 in Tunisia (North Africa) through Several Successive Waves of COVID-19. *Viruses.* 2022;14(3):624. doi: 10.3390/v14030624.
19. Ayadi W, Taktak A, Gargouri S, Smaoui F, Chtourou A, Skouri-Gargouri H, *et al.* Development of a simple genotyping method based on indel mutations to rapidly screen SARS-CoV-2 circulating variants: Delta, Omicron BA.1 and BA.2. *J Virol Methods.* 2022; 307:114570. doi: 10.1016/j.jviromet.2022.114570.
20. Salleh MZ, Derrick JP, Deris ZZ. Structural Evaluation of the Spike Glycoprotein Variants on SARS-CoV-2 Transmission and Immune Evasion. *Int J Mol Sci.* 2021 Jul 10;22(14):7425. doi: 10.3390/ijms22147425.
21. Shiehzeadegan S, Alaghemand N, Fox M, Venketaraman V. Analysis of the Delta Variant B.1.617.2 COVID-19. *Clinics and Practice.* 2021;11(4):778-784.
22. Ao D, Lan T, He X, Liu J, Chen L, Baptista-Hon DT, *et al.* SARS-CoV-2 Omicron variant: Immune escape and vaccine development. *MedComm.* 2022; 3(1):e126. doi: 10.1002/mco2.126.
23. Mahase E. Delta variant: What is happening with transmission, hospital admissions, and restrictions? *BMJ.* 2021 ; 373:n1513. doi: 10.1136/bmj.n1513. .
24. Ben Ahmed M, Bellali H, Gdoura M, Zamali I, Kallala O, Ben Hmid A, *et al.* Humoral and Cellular Immunogenicity of Six Different Vaccines against SARS-CoV-2 in Adults: A Comparative Study in Tunisia (North Africa). *Vaccines.* 2022 ; 10(8):1189. doi: 10.3390/vaccines10081189..
25. Covidvax. vaccin covid-19 en Tunisie. Disponible sur: <https://covidvax.live/fr/location/tun>. [En lignes] Consulté le 06/09/2022
26. Fan Y, Li X, Zhang L, Wan S, Zhang L, Zhou F. SARS-CoV-2 Omicron variant: recent progress and future perspectives. *Signal Transduction and Targeted Therapy.* 2022;7(1):141.
27. Fonager J, Bennedbæk M, Bager P, Wohlfahrt J, Ellegaard KM, Ingham AC, *et al.* Molecular epidemiology of the SARS-CoV-2 variant Omicron BA.2 sub-lineage in Denmark, 29 November 2021 to 2 January 2022. *Euro Surveill.* 2022; 27(10):2200181. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2022.27.10.2200181.
28. Tunisie D. Décret-loi n° 2021-1 du 22 octobre 2021, relatif au passe vaccinal concernant le virus « SARS-CoV-2 ». Disponible sur : <https://legislation-securite.tn/fr/law/105101>. [En lignes] Consulté le 06/09/2022
29. CDC. Isolation and Precautions for People with COVID-19 2022. Disponible sur: <https://www.cdc.gov/coronavirus/2019-ncov/your-health/isolation.html>. [En lignes] Consulté le 06/09/2022
30. FRANCE M. Accueil > Archives > Archives presse> Archives brèves > Évolution des règles d'isolement et de quarantaine Évolution des règles d'isolement et de quarantaine 2022. Disponible sur: <https://solidarites-sante.gouv.fr/archives/archives-presse/archives-breves/article/evolution-des-regles-d-isolement-et-de-quarantaine>. [En lignes] Consulté le 06/09/2022
31. Sofonea MT, Alizon S. Immunité de groupe et contrôle de l'épidémie de COVID-19: Centre National de la Recherche Scientifique (CNRS); Institut de Recherche; 2020. p5 Disponible sur : <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-02882682/document> [En lignes] Consulté le 06/09/2022.

ORIGINAL ARTICLE

Seroprevalence of SARS-CoV-2 antibodies among sickle cell patients in Burkina Faso

Séroprévalence des anticorps anti-SRAS-CoV-2 chez les drépanocytaires du Burkina Faso

Salam Sawadogo^{1,2}

Koumpingnin Nebie^{1,2}

Catherine Traore³

Abdoul-Guayini Sawadogo²

Donatien Kima⁴

Malick Nabaloum¹

Eric Arnaud Diendéré⁵

Henri Gautier Ouedraogo⁶

Eléonore Kafando^{1,4}

Yéri Esther Hien⁷

¹ Laboratory of hematology,
University Joseph KI-ZERBO,
Ouagadougou, Burkina Faso

² National blood transfusion center,
Ouagadougou, Burkina Faso

³ University Nazi BONI, Bobo-
Dioulasso, Burkina Faso

⁴ Charles de GAULLE Pediatric
university Hospital, Ouagadougou,
Burkina Faso

⁵ Teaching hospital of Bogodogo,
Ouagadougou, Burkina Faso

⁶ Institut de recherche en sciences
de la santé, Ouagadougou,
Burkina Faso

⁷ Laboratory of Biochemistry and
Applied Immunology, Joseph KI-
ZERBO University, Ouagadougou,
Burkina Faso

Soumis le 7 avril 2023,
accepté le 2 aout 2023

Corresponding author :
Dr Salam Sawadogo

Address :
01 BP 865 Ouagadougou 01

Courriel :
salam.sawadogo@ujkz.bf

Abstract

Introduction:

Like all countries in the world, sub-Saharan Africa has been affected by the COVID-19 pandemic. The socio-economic impact of the crisis has affected the health system, pushing certain health priorities into the background. In sub-Saharan Africa, the disease remains a major problem, with the highest incidence and lethality. It causes severe clinical manifestations and decreased immunity in patients, making them susceptible to significant morbidity and mortality related to COVID-19. The aim of this study was to determine the seroprevalence of SARS-CoV-2 antibodies and the risk factors in sickle cell patients in Burkina Faso.

Patients and methods:

We conducted a cross-sectional study in three sickle cell disease (SCD) reference centers in Ouagadougou from November to December 2021 and one center in Bobo-Dioulasso from July to October 2022. Patients of any age and gender attending these SCD centers were included. Sociodemographic and clinical data were collected from the patient's clinical record; SARS-CoV-2 IgG/IgM screening were performed using rapid diagnostic test.

Results:

A total of 304 patients (151 from Ouagadougou and 153 from Bobo-Dioulasso) with a median age of 12 years and a sex-ratio (M/F) of 0.82 were included. The median age at diagnosis of SCD was 4 years and the acute complications were the main circumstances of diagnosis (83.5%). The majority (55.6%) were SS homozygotes. The overall crude seroprevalence (IgM or IgG) was 57.9%. After adjustment for the sensitivity and specificity of the kit used, the seroprevalence was 69.1% (95% CI [65.5-72.6]). The positivity to SARS-CoV-2 antibodies was 2.51-fold ($p=0.005$), 3.25-fold ($p=0.004$) and 2.85-fold ($p=0.027$) higher in patients aged 10-19, 20-29 and 30-39 years respectively, compared to those under 10 years. History of recurrent vaso-occlusive crises in the last 12 months was also associated with SARS-CoV-2 seropositivity (OR=2.18; 95% CI [1.18-4.05], $p=0.013$).

Conclusion:

SCD patients, like the general population, were affected by the COVID-19 pandemic. Given their relative immunosuppression and comorbidities, it is necessary to promote protective measures against COVID-19, including vaccination, in these patients.

Keywords: Sickle cell disease, COVID-19, Seroprevalence, SARS-CoV-2 antibodies.

Résumé

Introduction:

A l'instar du reste du monde, l'Afrique Sub-Saharienne a été touchée par la COVID-19. L'impact socio-économique a concerné le système de santé, reléguant au second plan certaines priorités de santé. La drépanocytose constitue un problème de santé publique en Afrique, avec l'incidence et la létalité les plus élevées. Elle provoque des manifestations cliniques graves et une diminution de l'immunité chez les patients, les exposant à un risque important de morbidité et de mortalité. Le but de l'étude était de déterminer la séroprévalence et les facteurs de risque des anticorps anti-SRAS-CoV-2 chez les drépanocytaires du Burkina Faso.

Patients et méthodes :

Nous avons mené une étude transversale dans trois centres à Ouagadougou de novembre à décembre 2021 et un centre à Bobo-Dioulasso de juillet à octobre 2022. Les patients de tout âge, deux sexes fréquentant ces centres de référence ont été inclus. Les données sociodémographiques et cliniques ont été recueillies à partir des dossiers cliniques. Le dépistage des anticorps anti-SRAS-CoV-2 a été réalisé à l'aide de tests de diagnostic rapide.

Résultats :

Un total de 304 patients (151 de Ouagadougou et 153 de Bobo-Dioulasso) avec un âge médian de 12 ans et un sex-ratio (H/F) de 0,82 a été inclus. La majorité (55,6%) était homozygote SS. La séroprévalence brute était de 57,9%. Après ajustement en fonction des performances du kit, la séroprévalence était de 69,1% (IC 95% [65,5-72,6]). Comparés aux patients de moins de 10 ans, la séropositivité aux anticorps était 2,51 ($p=0,005$), 3,25 ($p=0,004$) et 2,85 ($p=0,027$) fois plus élevée chez les patients âgés de 10-19 ans, de 20-29 ans et de 30-39 ans. Des antécédents de crises vaso-occlusives au cours de l'année étaient également associés à la séropositivité (OR=2,18; IC 95% [1,18-4,05], $p=0,013$).

Conclusion :

Les patients drépanocytaires ont été affectés la COVID-19. Compte tenu de leur immunodépression relative et de leurs comorbidités, il est nécessaire de promouvoir des mesures de protection contre la COVID-19, y compris la vaccination, chez ces patients.

Mots-clés : Drépanocytose, COVID-19, Séroprévalence, anticorps anti-SRAS-CoV-2.

INTRODUCTION

In late 2019, severe acute respiratory syndrome coronavirus type 2 (SARS-CoV-2) emerged and caused the COVID-19 pandemic (1). The number of cases increased and spread rapidly worldwide, reaching 663,640,386 confirmed cases and 6,713,093 deaths as of January 20, 2023 (2). Sub-Saharan Africa (SSA) had 9,466,921 confirmed cases and 175,177 deaths as of the same date. Compared to other continents, Africa has fewer cases (2). But these figures do not reflect the magnitude of the pandemic in SSA. Indeed, SSA experienced a low number of tests performed daily at the time of the pandemic. While developed countries had implemented large-scale screening, in Africa, testing was mainly offered to people with symptoms consistent with COVID-19 and to travellers (3). The pandemic has affected various socio-economic conditions in SSA, including the functioning of health services and their use by patients (4). During the pandemic, government efforts focused on managing the effects of the pandemic, pushing certain health priorities into the background (5). Sickle cell disease (SCD) is a genetic disease of autosomal recessive inheritance due to the presence in red blood cells (RBC) of the abnormal hemoglobin S. According to the World Health Organization (WHO), SCD is a major public health problem worldwide and specifically in SSA (6). Indeed, SSA accounts for 3/4 of the incident cases and the highest case fatality in children under five (6, 7). The *primum movens* of the pathogenesis of SCD is the polymerization of deoxygenated HbS, which induces RBCs sickling and shortening of their life span (hyperhemolysis) and also vascular obstruction phenomena resulting in vaso-occlusive crises (VOCs) and ischemic lesions. The reduction of anti-infectious immunity due to impaired leukocyte function and functional or organic asplenia exposes SCD patients to recurrent infections (8). Thus, SCD patients with these various factors (functional hyposplenism, vasculopathy, and recurrent VOCs) of immune system impairment are in the «high-risk category» for contracting SARS-CoV-2 (9, 10). Due to the dual hypoxic burden (SCD and COVID-19), they may develop severe clinical manifestations, including acute respiratory distress syndrome, pneumonia, acute chest syndrome (ACS), all of which are leading causes of mortality in SCD patients (11).

Burkina Faso, an intertropical country located in the Lehmann sickle cell belt. The incidence of SCD in Burkina Faso is 1.8 to 1.9%, according to neonatal screening data from certain towns in the country (12, 13). In some hospital studies, the prevalence of SCD ranged from 8.4 to 12.1% (14, 15), and in a community study, it was about 1.4% (14). Like other countries in the West African sub-region, Burkina Faso experienced its

first cases of COVID-19 in the middle of the first quarter of 2020. Given the weakness of the healthcare system, the impact of the pandemic in general, and specifically on patients with chronic hematological diseases such as SCD, was a matter of great concern. So, based on a review of the literature available at the time, the *Groupe d'intervention en hématologie (GIH)* and the *Société Burkinabè de Transfusion Sanguine (SBTS)* made recommendations for physicians to ensure continuity and quality of care for these chronic patients (16). However, these recommendations did not include the implementation of a monitoring system such as a specific database. Therefore, there are no specific data on COVID-19 in sickle cell patients in Burkina Faso. The aim of this study was to investigate the cumulative prevalence of SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies in sickle patients active file of cell patients in Ouagadougou and Bobo-Dioulasso, the two cities with the largest SCD in Burkina Faso. The results of this study could be used for better understanding of the extent of COVID-19 in sickle cell patients in Burkina Faso with a view to suggesting protection and management measures.

PATIENTS AND METHODS

Study design, period and settings

It was a cross-sectional study using data collected from November to December 2021 in Ouagadougou, the capital of Burkina Faso and from July to October 2022 in Bobo-Dioulasso, the economic capital. The study was conducted in three health facilities; the *Hôpital Saint Camille de Ouagadougou* (HOSCO), the *Centre hospitalier universitaire Yalgado Ouedraogo* (CHUYO) and the *Centre hospitalier universitaire pédiatrique Charles de Gaulle* (CHUP-CDG) in Ouagadougou. These three hospitals are the main reference centers for SCD management, with HOSCO the most important center (approximately 4,000 patients registered on the active file). In Bobo-Dioulasso, the study was conducted in the *Centre hospitalier universitaire Sourô Sanou* (CHUSS). The CHUSS is the biggest health facility involved in a pilot newborn screening of SCD program conducted from 2015 to 2019 (13).

The first cases of COVID-19 in Burkina Faso were reported in early March 2020 in Ouagadougou. Bobo-Dioulasso and other regions of the country were gradually affected. By the end of 2022, a cumulative total number of 22,023 confirmed cases and 395 deaths have been recorded nationwide (17). The response to the pandemic focused on barrier measures at the beginning and later, the COVID-19 vaccination introduced on June 2, 2021, for people over 18 years old. It will then be extended to those aged 12 to 18 at the end of 2021 (18). The vaccines available were the two mRNA vaccines from Moderna and Pfizer-BioNTech (single dose vac-

cine regimen), two viral vector-based vaccines from AstraZeneca (two doses vaccine regimen) and Janssen (single dose) and two inactivated viral vaccines from Sinovac and Sinopharm (single dose). Several vaccination campaigns have been launched, but by the end of 2022, 4.3 million of the 21 million population had received at least one dose and 3.3 million were fully vaccinated (19). Apart from any measures on the personal initiative of the attending physicians, no special provision is made for sickle cell patients.

Patients recruitment and data collection

As each patient had an appointment date for their follow-up consultation, they were recruited consecutively at the end of each consultation.

We included sickle cell patients of both genders and all ages followed at the above-mentioned centers on a non-probability basis. As each patient had an appointment date for their follow-up, they were recruited consecutively at the end of each consultation. Data concerning sociodemographic (age, sex, residence), clinical and biological characteristics (age and circumstances of diagnosis, frequency and type of acute complications, chronic complications, SCD phenotype and complete blood count parameters) were collected from clinical records or during face-to-face interviews.

For each patient included, a 5 mL venous blood sample was collected on EDTA (ethylene-diamine-tetra-acetic acid) tube and transported to the hematology laboratory in a container with ice-packs. The samples were centrifuged within 6 hours after collection at 2500 rpm for 5 minutes and the plasma was aliquoted into two vials (for antibody screening and quality control, where applicable) and stored at -40°C until serological testing for SARS-CoV-2 antibodies screening.

Rapid diagnostic test kit

The kit used was the COVID-19 IgM/IgG Rapid test Cassette[®] kit, lot N° 2008293, Ref: GCCOV-402a (Zhejiang Orient Gene Biotech CO., Ltd; Zhejiang, China). This is a lateral flow immunochromatographic test using anti-human IgM antibodies (IgM test line), anti-human IgG antibodies (IgG test line) and anti-rabbit IgG antibodies (C control line) fixed on nitrocellulose. Each cassette has one well for the sample to be tested and another one for the reagent buffer. The biological sample well contains recombinant SARS-CoV-2 antigens consisting of the receptor binding domain (RBD) of spike protein, coated with a colorimetric conjugate that changes color with the buffer. The SARS-CoV-2 IgG and/or IgM antibodies form an antibody-antigen that migrates by capillary action into the nitrocellulose. When it encounters the corresponding coated antibody (IgG or IgM test line), the complex binds to the antibody and the conjugate turns red, indicating a positive test. The intrinsic performance of the tests claimed by the

manufacturer, based on tests performed on whole blood from symptomatic patients with positive RT-PCR and convalescent patients, was 87.9% (for IgM) / 97.2% (for IgG) of sensitivity and 100% of specificity for IgG and IgM (20). In Burkina Faso, a performance evaluation of the same kit in comparison (gold-standard) with Wantai Bio-Pharm IgM/IgG ELISA[®] kit (Beijing Wantai biological and pharmacy Enterprise co, Ltd, Beijing, China), conducted using plasma collected independently of the history of SARS-CoV-2 infection in individuals prior to the introduction of COVID-19 vaccination, has shown 51.6/97.4% sensitivity/specificity and 95.3/66.8% positive/negative predictive values (21).

Sample testing

Anti-SRAS-CoV-2 antibodies were tested on thawed patient plasma in a 37°C water bath for 20-30 minutes. Samples were tested immediately after thawing according to the reagent manufacturer's recommendations. Samples were tested immediately after thawing according to the reagent manufacturer's recommendations. Testing was performed in batches of 10 samples to avoid prolonged exposure to room temperature.

In practice, the device pack of the pocket kit was opened and labelled with the patient identification code. A volume of 10 µL of plasma was pipetted into the biological sample well and two drops (approximately 60 µL) of dilution buffer (10mM PBS buffer) into the appropriate well. Migration occurred by capillary action and the results were read after 10 minutes, stopwatch in hand. The test is valid only if the control line (C) appears red; if it does not, the test is repeated with another cassette. The presence of anti-SARS-CoV-2 IgM or anti-SARS-CoV-2 IgG is indicated by a red test line in zones M or G respectively. If both lines turn red in addition to the control line, anti-SARS-CoV-2 IgM and anti-SARS-CoV-2 IgG are present. If only the control line (C) is red, the sample is negative.

Statistical analysis

The data collected were entered on Epi-Info 7.2.5.0 (CDC, Atlanta, GA, USA) and exported into STATA/SE version 15.1 (College Station, TX: StataCorp LLC) for analysis. Frequencies and proportions were used to describe categorical variables and means with the standard deviation or median with the 1st (Q1) and 3rd (Q3) quartiles for quantitative variables.

Due to the uncertainties related to the results of serological tests for COVID-19, it is recommended to adjust the seroprevalences using the intrinsic performances resulting from the evaluations of the tests in a context similar to that of the study (22, 23). Therefore, the crude seroprevalences are adjusted according to the kit performances found in Burkina Faso (21), using the following formula: (23). Chi-square or Fischer exact and ANOVA tests as appropriated and Odd-ratio were used in univari-

ate and multivariate logistic regression for statistical comparisons at the significant threshold $p < 0.05$.

Ethical considerations

In the absence of an institutional ethics committee in the hospitals concerned, authorizations were obtained from the administrative department and the quality of care and patient safety department. Signed informed consent was obtained from study participants or their parents or guardians for children under 18 years. Data were analyzed anonymously and kept confidential.

RESULTS

A total of 304 patients were included with a median age of 12 years (IQR: 5; 22.5), 54.9% of whom were females (i.e. sex-ratio M/F of 0.82) and 91.1% were from urban areas. The median age at diagnosis of SCD was 4 years (IQR: 1.2; 9). The main circumstance of diagnostic was VOCs (83.5%). The majority of patients (55.6%) were homozygous HbSS (Table 1). Hyperleukocytosis and thrombocytosis were noted in 64.3% and 53.9% of patients respectively. Overall seropositivity (IgM or IgG antibodies to SARS-CoV-2) were found in 176 patients (i.e., 57.9% of

crude prevalence). IgG antibodies alone (recovery phase or vaccinated subject) were found in 156 patients, IgM and IgG combined (early recovery phase) in 17 patients and IgM alone (recent infection) in 3 cases. After adjustment to the sensitivity and specificity of test used calculated, the overall adjusted seropositivity was 69.1%; 95% CI [65.5-72.6]. Compared to children under 10 years, young children and adolescents aged 10-19 years (OR = 2.51; 95% CI [1.32-4.80]; $p = 0.005$), young adults aged 20-29 years (OR = 3.25; 95% CI [1.47-7.18]; $p = 0.004$) and 30-39 years (OR = 2.85; 95% CI [1.13-7.24]; $p = 0.027$) presented significant high seroprevalences of SARS-CoV-2, 75.4% (95% CI [66.0-81.7]), 78.3% (95% CI [68.7-86.0]) and 74.6% (95% CI [63.1-84.1]) respectively (Table 2). Patients who reported VOCs in the past 12 months had an odd of 2.18 (95% CI [1.18-4.05]; $p = 0.013$) of having anti-SARS-CoV-2 antibodies compared to those who had no acute complications. As shown in Table 2, there no association between the positivity to anti-SARS-CoV-2 antibodies and patients' gender, hemoglobin phenotype and the presence of SCD chronic complications.

Table 1: Baseline characteristics of sickle cell patients, Burkina Faso (N = 304)

Characteristics	Total (n, % Col)	Ouagadougou (n, % Row)	Bobo-Dioulasso (n, % Row)	p-value
Sex				0.496
Male	137 (45.1)	71 (51.8)	66 (48.2)	
Female	167 (54.9)	80 (47.9)	87 (52.1)	
Age in years, median [Q1 - Q3]	12 [5 - 22.5)	17 [10 - 30)	7 [4 - 19)	< 0.001
Age groups in years				< 0.001
< 10	127 (41.8)	36 (28.3)	91 (71.7)	
[10-19)	78 (25.7)	54 (69.2)	24 (30.8)	
[20-29)	44 (14.5)	23 (52.3)	23 (52.3)	
[30-39)	33 (10.9)	23 (69.7)	10 (30.3)	
≥ 40	22 (7.2)	15 (68.2)	7 (31.8)	
Age at diagnosis of SCD, median [Q1 - Q3]	4 [1.2 - 9)	5 [3 - 12)	3 [1 - 6)	< 0.001
Diagnosis circumstances				< 0.001
Incidental	13 (4.3)	4 (30.8)	9 (69.2)	
Sickle cell crisis	254 (83.5)	147 (57.9)	107 (42.1)	
Newborn screening	23 (7.6)	0 (0.0)	23 (100)	
Parents at risk	14 (4.6)	0 (0.0)	14 (100)	
Crisis episodes per year, median [Q1 - Q3]	2 [1 - 3)	2 [1 - 4)	1 [0 - 3)	0.001
Hemoglobin phenotype				0.004
Sβ ⁺ -thalassemia	3 (1.0)	3 (100)	0 (0.0)	
Sβ ⁰ -thalassemia	6 (2.0)	1 (16.7)	5 (83.3)	
SC	126 (41.4)	52 (41.3)	74 (58.7)	
SS	169 (55.6)	95 (56.2)	74 (43.8)	
Positivity to SARS-CoV-2 antibodies				0.406
Yes	176 (57.9)	91 (51.7)	85 (48.3)	
No	128 (42.1)	60 (46.9)	68 (53.1)	

Col: Column; Q1 :1st quartile; Q3 : 3th quartile ; SCD: Sickle cell disease

Table 2: Crude and adjusted prevalences and risk factors of SARS-CoV-2 antibodies in sickle cell patients, Ouagadougou, Burkina Faso (N = 304)

Risk factors	Total n (%)	Crude prevalence n (%)	Adjusted prevalence [95% CI]	Odd ratio [95% CI]	p-value
Overall	304 (100)	176 (57.9)	69.1 [65.5-72.6]	-	-
Study area					
Ouagadougou	151 (49.7)	91 (60.3)	70.6 [65.5-75.5]	Reference	-
Bobo Dioulasso	153 (50.3)	85 (55.5)	67.7 [62.6-72.7]	1.75 [0.93-3.29]	0.084
Sex					
Male	137 (45.1)	75 (54.7)	67.2 [61.8-72.4]	Reference	-
Female	167 (54.9)	101 (60.5)	70.8 [65.9-75.4]	1.16 [0.70-1.91]	0.571
Age groups (in years)					
< 10	127 (41.8)	56 (44.1)	60.6 [55.1-66.2]	Reference	-
10 – 19	78 (25.6)	53 (67.9)	75.4 [66.0-81.7]	2.51 [1.32-4.80]	0.005
20 – 29	44 (14.5)	32 (72.7)	78.3 [68.7-86.0]	3.25 [1.47-7.18]	0.004
30 – 39	33 (10.8)	22 (66.7)	74.6 [63.1-84.1]	2.85 [1.13-7.24]	0.027
≥ 40	22 (7.2)	13 (59.1)	69.9 [55.7-82.4]	2.16 [0.79-5.93]	0.133
Hemoglobin phenotype					
SS	169 (55.6)	99 (58.6)	69.6 [64.7-74.2]	Reference	-
SC	126 (41.4)	70 (55.5)	67.7 [62.0-73.2]	0.85 [0.51-1.44]	0.557
Sβ-thalassemia ^a	9 (3.0)	7 (77.8)	81.5 [58.0-93.6]	1.76 [0.33-9.30]	0.505
Acute crisis in last 12 months					
None	127 (41.8)	63 (49.6)	64.0 [58.4-69.6]	Reference	-
Acute anemia	14 (4.6)	8 (57.1)	68.6 [51.1-84.3]	1.35 [0.41-4.40]	0.617
Infections	12 (3.9)	5 (41.7)	59.1 [42.6-81.8]	0.93 [0.26-3.35]	0.918
VOCs ^b	147 (48.3)	97 (66.0)	74.2 [69.0-78.9]	2.18 [1.18-4.05]	0.013
Other ^c	4 (1.3)	3 (75.0)	79.8 [45.2-94.9]	3.75 [0.34-41.55]	0.282
Chronic complications					
No	275 (90.5)	158 (57.4)	68.8 [65.1-72.6]	Reference	-
Yes	29 (9.5)	18 (62.1)	71.8 [59.5-82.4]	0.84 [0.34-2.03]	0.693

^a : Sβ^o-thalassemia + Sβ⁺-thalassemia ; ^b : Vaso-occlusive crises ; ^c : Acute chest syndrome + Priapism + stroke

DISCUSSION

The objective of our study was to investigate the cumulative prevalence of SARS-CoV-2 IgM and IgG antibodies in sickle cell patients in Ouagadougou and Bobo-Dioulasso.

The adjusted overall seroprevalence (IgG or IgM antibodies SARS-CoV-2) was 69.1% (95% CI [65.5-72.6]). Only three patients had IgM antibodies and were assumed to have acute SARS-CoV-2 infection at the time of sample collection in our study. However, no RT-PCR tests were performed to confirm this hypothesis. This level of cumulative immunity indicates that since its onset in Burkina Faso in March 2020, the COVID-19 infection spreads very rapidly in the general population, but also in sickle cell patients. This progression has been facilitated by the non-acceptance and non-compliance with the barrier measures decreed by the government (24, 25). Initially, the reality of the disease was denied, discredited, and presented as a disease affecting only the

rich. This has affected the public’s acceptability of barrier measures and other public health interventions (e.g. vaccination), and consequently their effectiveness (26). At the end of November 2020 (eight months after the start of the epidemic in Burkina Faso), a study conducted among people living with HIV, showed a seroprevalence of 18% (27). Three months later, in February-March 2021, SARS-CoV-2 seroprevalence was estimated to be 35.7%, meaning a nearly 100% increase (28). In the same vein, a nationwide study conducted in October 2021, during the Omicron wave, among 6,592 individuals aged 5 years and older from the 13 administrative regions of Burkina Faso, noted a seroprevalence of 89.8% (95% CI [86.6-92.2]) (unpublished data). Given that there were no specific protective measures for sickle cell patients apart from the generic advice given to all, it is easy to accept that, irrespective of socio-demographic characteristics, the dynamics of the progression of infection were the same in this population of sickle cell patients. Such overall sero-

prevalences, consisting mainly of IgG antibodies, contrasts with the official data which reported a cumulative number of 16,672 confirmed cases (based on PCR and antigenic tests) and 296 deaths (case-fatality ratio of 1.8%) at national level, at the time of collection of our study samples in Ouagadougou (December 2021) (29). In October 2022, the cumulative number of confirmed cases reported by the national surveillance system was 21,883, including 395 deaths (i.e. a difference of 5,211 confirmed cases and only 99 deaths in 10 months) (30). However, virus sequencing data showed that it was the Omicron variant, described as more contagious, that was circulating at the time (31).

In addition to the hypothesis that the virus has spread widely, with a large number of symptomatic and non-symptomatic cases (not supported by solid data from large-scale RT-PCR tests), these high seroprevalences could be due to biases related to the frequent cross-reactions observed with COVID-19 RDTs and to post-vaccination antibodies not discriminated against by the test used (based on a recombinant antigen of the RBD of Spike Protein). However, even if we do not have data on the vaccination status of our study population, it is unlikely that vaccination had a significant impact given the poor success it had in our country. Indeed, vaccination was introduced in early June 2021 only for people over 18 years old initially and extended to people over 12 years old from December 2021 (18). Only 4.5% of the population had received at least one dose in December 2021 (18) and 19.7% a year later in December 2022 (19). Less than 20,000 doses (0.4% of the total number of doses administered) had been received by children in December 2022 (19). The complete vaccination coverage rate was 2.9% in December 2021 and 15% in December 2022 (32), despite multiple immunization intensification campaigns (18). These rates were far from the goal of 70% vaccination coverage to be achieved by all countries by mid-2022 (33). The adjusted prevalence was 70.6% (95% CI [65.5-75.5]) in Ouagadougou and 67.7% (95% CI [62.6-72.7]) in Bobo-Dioulasso with a non-significant odd ratio difference ($p=0.084$). These results are difficult to interpret because the samples were not collected in the two cities at the same time as described in the study methodology. Nevertheless, we surprisingly noted that the prevalence of SARS-CoV-2 in Bobo-Dioulasso was lower than in Ouagadougou 10 to 12 months earlier. Ouagadougou was the epicenter of the pandemic in Burkina Faso. The first cases were detected there in March 2020; Bobo was affected later. In a seroprevalence study we conducted among blood donors aged 18 to 60 years in April 2022, we noted a significantly higher seroprevalence in Ouagadougou (92.2%; 95% CI [91.1-93.0]) compared to Bobo-Dioulasso (88.8%; 95% CI [87.0-90.3]) (unpublished data). However, the most plausible explanation

could be related to patients' age. Indeed, the median age of patients from Bobo-Dioulasso was 10 years lower than the median age of patients from Ouagadougou (Table 1). Many findings suggest an increase in seroprevalence with age due to an increased risk of exposure to the virus with age (frequent human contact in schools and workplaces) (34–36). Moreover, the predominance of the local innate immune response instead of the humoral response in children has been suggested to explain the low presence of circulating antibodies in children and adolescents (37).

There are scarce relevant data about the susceptibility of sickle cell patients to SARS-CoV-2 infection. Most of the available data are from narrative reviews, case series and not from robust randomized studies. Furthermore, while it is expected that the sickle cell subjects, because of their relative immunosuppression, would be more susceptible to any infection, including COVID-19, there is no scientific data to support such an assumption. However, other immunosuppressed situations such as HIV infection, appear to have nearly a ¼ increased susceptibility to SARS-CoV-2 infection (38). In our study, we found that patients having had recurrent VOCs, in the 12 last months, had 2.18 odds of having SARS-CoV-2 antibodies compared with those without acute complications. The triggers for these VOCs are not known, so it is difficult to speculate on this association. However, according to some results of observational studies that suggest a significant association between SCD and high morbidity in COVID-19 (39–41), it is plausible to think that symptomatic SARS-CoV-2 infection (as any other infection) could potentially be a trigger for sickle cell crises. According to Alkindi *et al.*, the frequency of VOCs is 0.5 times higher in sickle cell patients with COVID-19 (39). Painful and acute chest syndrome due to SCD had a relative risk of hospitalization of 1.6 to 2.15 and relative risk of 1.76 to 3.67 for severe COVID-19 infection in children. Painful and renal failure were identified in adults as factors associated to hospitalizations and/or severity of COVID-19 infection (40). In another study, Minniti *et al.* made similar findings. However, they could not conclude that mortality was significantly higher in SCD, despite a case fatality of 10% versus 3% in the general population (41). As in some previous studies (41, 42), our study did not find association between hemoglobin phenotype and morbidity or mortality in COVID-19. However, as a precautionary measure, preventive measures against COVID-19, including vaccination, should be taken in sickle cell patients.

In our study, we found an association between patients' age and the seroprevalence of SARS-CoV-2 antibodies (Table 2). In general population, age is pointed of as a most common susceptibility factors to SARS-CoV-2, with greater susceptibility in older children, adolescents,

and adults than in children under 10 years and persons over 55 years of age (35, 36). This can be explained by the mode of transmission of the virus. People in these age groups are most exposed through close human contact at school or in the workplace.

This is the first study that evaluates the extend of COVID-19 in sickle cell patients in our country. It provides data that will contribute to the understanding of the COVID-19 pandemic dynamic in Burkina Faso. However, our study has some limitations. Indeed, this was an intra-hospital study centered on Ouagadougou and Bobo Dioulasso. Even though these two cities combine the main sickle cell treatment centers, they are far from representing the whole country, especially in terms of the epidemiology of COVID-19. Our results cannot therefore be generalized. The samples from the two towns were taken at different times (at least 10 months apart), which represents a very long delay in the dynamics of the COVID-19 pandemic marked by numerous waves of viral variants of different infectivity and severity. In addition, the population of sickle cell patients of Ouagadougou was significantly different from that of Bobo in terms of age and hemoglobin profile among others. So, the prevalence in the two cities cannot be compared. Finally, we screened SARS-CoV-2 antibodies using a IgM/IgG RDT with the possibility of false

negative or positive results due to cross-reactions or poor technical operations (handling and interpretation errors (43). In addition, the test used does not make it possible to discriminate between natural antibodies and post-vaccination antibodies.

CONCLUSION

Our study suggest that a significant proportion of sickle cell patients have been in contact with the SARS-CoV-2. History of VOCs and age were the factors associated with this seropositivity to SARS-CoV-2 antibodies. Taking into account the data in the literature that showing that SCD organic complications have a negative impact on COVID-19 prognosis, it is important to actively consider COVID-19 prevention measures, including vaccination, in sickle cell patients.

Conflict of interest

The authors declare no conflicts of interest.

Author contributions

SS, KE, KN designed the study. SS, KD, NM and TC collected the data, that were analyzed by SS, SAG, HYE, OHG, DEA, NK. SS wrote the manuscript draft. All authors commented and revised the draft of manuscript. The final draft was approved by all the authors before submission for publication.

REFERENCES

1. Cucinotta D, Vanelli M. WHO Declares COVID Pandemic. *Acta Bio Medica Atenei Parmensis*. 19 mars 2020;91(1):157-160.
2. WHO. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard (Internet). WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard. 2023 (accessed 4 Jan 2023). available at: <https://covid19.who.int/>.
3. WHO A. The coronavirus disease 2019 (COVID-19) strategic preparedness and response plan for the WHO African Region (1 February 2021 – 31 January 2022). Brazzaville, Congo: WHO; 2021 p. 28.
4. Lone SA, Ahmad A. COVID-19 pandemic – an African perspective. *Emerging Microbes & Infections*. 2020 ; 9: 1300–1308.
5. Tessema GA, Kinfu Y, Dachew BA, Tesema AG, Assefa Y, Alene KA, *et al*. The COVID-19 pandemic and healthcare systems in Africa: a scoping review of preparedness, impact and response. *BMJ Glob Health*. 2021; 6(12): e007179. doi: 10.1136/bmjgh-2021-007179.
6. WHO regional committee for Africa. Sickle-cell disease: a strategy for the who African region. AFR/RC60/8, Sixtieth session Malabo, Equatorial Guinea: World Health Organization, 2010. 9p. (accessed 4 Jan 2023). Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/1682>
7. Grosse SD, Odame I, Atrash HK, Amendah DD, Piel FB, Williams TN. Sickle Cell Disease in Africa. *Am J Prev Med*. 2011; 41(6 Suppl 4): S398–S405.
8. Giulietti G, Zama D, Conti F, Moratti M, Presutti MT, Belotti T, *et al*. In-Depth Immunological Typization of Children with Sickle Cell Disease: A Preliminary Insight into Its Plausible Correlation with Clinical Course and Hydroxyurea Therapy. *J Clin Med*. 2022;11(11):3037. doi: 10.3390/jcm11113037..
9. Hoogenboom WS, Alamuri TT, McMahon DM, Balanchivadze N, Dabak V, Mitchell WB, *et al*. Clinical outcomes of COVID-19 in patients with sickle cell disease and sickle cell trait: A critical appraisal of the literature. *Blood Reviews* 2021;53:100911. doi: 10.1016/j.blre.2021.100911
10. Abdulrahman A, Wael M, AlAmmadi F, Almosawi Z, Alsherooqi R, Abduljalil M, *et al*. Is sickle cell disease a risk factor for severe COVID-19 outcomes in hospitalized patients? A multicenter national retrospective cohort study. *EJHaem*. 2021; 2(2):167-174. doi: 10.1002/jha2.170..
11. Serjeant GR. The Natural History of Sickle Cell Disease. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2013; 3: a011783–a011783.
12. Kafando E, Sawadogo M, Cotton F, Vertongen F, Gulbis B. Neonatal screening for sickle cell disorders in Ouagadougou, Burkina Faso: a pilot study. *J Med Screen*. 2005;12(3):112-114. doi: 10.1258/096914 1054855300. .
13. Sawadogo S, Nebie K, Kima D, Savadogo HT, Sanou JD, Ouédraogo D, *et al*. Incidence of Sickle Cell Disease and Other Hemoglobinopathies in Burkina Faso: Results of a Five-Year Systematic Neonatal Screening (2015-2019) in Four Urban Hospitals. *Open Journal of Blood Diseases*. 2022; 12: 87–97.
14. Simpore J, Nikiema JB, Sawadogo L, Pignatelli S, Blot I. Prévalence des hémoglobinopathies HbS et HbC au Burkina Faso. *Burkina Médical*. 2003; 6: 99–107.
15. Traoré M, Zohoncon TM, Ouédraogo P, Ouattara AK, Obiri-Yeboah D, Tao I, *et al*. Hemoglobin AE, AO-Arab and SO-Arab Genotypes in Burkina Faso: Hematological Parameters, Genotypic and Allelic Frequencies of Hemoglobinopathies. *J Human Clin Gen*. 2020; 2: 23–30.

16. GIH, SBTS. Maladie à coronavirus 2019 (COVID-19) et hématologie : Recommandations pour la prise en charge des anomalies hématologiques au Burkina Faso. GIH & SBTS: avril 2020, Version 1. 23p.
17. Cluster Santé. Bulletin N°35 du cluster santé. Bulletin Mensuel Décembre 2022, Ouagadougou, Burkina Faso: Cluster Santé Burkina Faso. 12p. [accessed 21 Jun 2023]. Available at: <https://reliefweb.int/report/burkina-faso/bulletin-ndeg35-du-cluster-sante-decembre-2022>.
18. OMS. Le Burkina Faso intensifie la vaccination contre la COVID-19. [accessed 21 June 2023]. Available at: <https://www.afro.who.int/fr/news/le-burkina-faso-intensifie-la-vaccination-contre-la-covid-19>
19. Atuhebwe P, Mboussou F. COVID-19 vaccination in the who African region. Brazzaville, Congo: WHO Regional Office for Africa, November 2022. 36p.
20. Zheijang Orient Gene Biotech. COVID-19 IgG/IgM Rapid Test Cassette (Whole Blood/Serum/Plasma) Instruction for Use. Shanghai International Holding Corp; 2020.
21. Ouedraogo HG, Zoure AA, Compaoré TR, Ky H, Zida S, Zingué D, *et al.* Evaluation of ten (10) SARS-CoV-2 rapid serological tests in comparison with WANTAI SARS-CoV-2 ab ELISA in Burkina Faso, West Africa. *Virol J.* 2023; 20(1):57. doi.org/10.1186/s12985-023-02011-4.
22. Meyer MJ, Yan S, Schlageter S, Kraemer JD, Rosenberg ES, Stoto MA. Adjusting COVID-19 Seroprevalence Survey Results to Account for Test Sensitivity and Specificity. *Am J Epidemiol.* 2022; 191(4):681-688. doi: 10.1093/aje/kwab273. PMID: 34791024.
23. Sempos CT, Tian L. Adjusting Coronavirus Prevalence Estimates for Laboratory Test Kit Error. *Am J Epidemiol* 2021; 190: 109–115.
24. Bonnet E, Beaugé Y, Ba MF, Sidibé S, De Allegri M, Ridde V. Knowledge of COVID-19 and the impact on indigents' access to healthcare in Burkina Faso. *Int J Equity Health.* 2022; 21(1):150. doi: 10.1186/s12939-022-01778-2. .
25. Kaboré A, Nassa MA, Tognon H, *et al.* Respect des mesures barrières covid-19 : analyse socio-écologique utilisant la technique de photovoice. In: Actes du colloque sur la Covid-19, 22-23 octobre 2020. Ouagadougou: Presses Universitaires de Ouagadougou, 2021, pp. 1–25.
26. Ag Ahmed MA, Ly BA, Millimouno TM, Alami H, Faye CL, Boukary S, *et al.* Willingness to comply with physical distancing measures against COVID-19 in four African countries. *BMJ Glob Health.* 2020; 5(9):e003632. doi: 10.1136/bmjgh-2020-003632.
27. Sagna T, Ouedraogo P, Traore L, Obiri-Yeboah D, Yonli A, Tapsoba A, *et al.* Enigma of the high prevalence of anti-SARS-CoV-2 antibodies in HIV-positive people with no symptoms of COVID-19 in Burkina Faso. *J Public Health Afr.* 2022; 13(1):1778. doi: 10.4081/jphia.2022.1778.
28. Struck NS, Lorenz E, Deschermeier C, Eibach D, Kettenbeil J, Loag W, *et al.* High seroprevalence of SARS-CoV-2 in Burkina-Faso, Ghana and Madagascar in 2021: a population-based study. *BMC Public Health.* 2022;22(1): 167622:1676. doi.org/10.1186/s12889-022-13918-y.
29. Cluster Santé. *Bulletin N°22 du Cluster Santé.* Bulletin Mensuel Novembre 2021. Ouagadougou, Burkina Faso: Cluster Santé Burkina Faso. 21p. (accessed 21 Jun 2023). Available at:<https://reliefweb.int/report/burkina-faso/bulletin-n-22-du-cluster-sant-novembre-2021>
30. Cluster Santé. *Bulletin N°33 du Cluster Santé.* Bulletin Mensuel Octobre 2022. Ouagadougou, Burkina Faso: Cluster Santé Burkina Faso. 15p. [accessed 21 Jun 2023]. Available at: <https://reliefweb.int/report/burkina-faso/bulletin-ndeg33-du-cluster-sante-octobre-2022>
31. Sawadogo Y, Galal L, Belarbi E, Zongo A, Schubert G, Leendertz F, *et al.* Genomic Epidemiology of SARS-CoV-2 in Western Burkina Faso, West Africa. *Viruses.* 2022; 14(12): 2788. doi: 10.3390/v14122788.
32. Mboussou F, Farham B, Nsasiirwe S, Atagbaza A, Oyaole D, Atuhebwe PL, *et al.* COVID-19 Vaccination in the WHO African Region: Progress Made in 2022 and Factors Associated. *Vaccines.* 2023; 11(5): 1010. doi.org/10.3390/vaccines11051010
33. World Health Organization. Strategy to Achieve Global COVID-19 Vaccination by Mid-2022. [accessed 21 Jun 2023]. Available at: <https://www.who.int/publications/m/item/strategy-to-achieve-global-covid-19-vaccination-by-mid-2022> (accessed 21 June 2023).
34. Ngere I, Dawa J, Hunsperger E, Otieno N, Masika M, Amoth P, *et al.* High seroprevalence of SARS-CoV-2 but low infection fatality ratio eight months after introduction in Nairobi, Kenya. *Int J Infect Dis.* 2021; 112: 25–34.
35. SeyedAlinaghi S, Mehrtak M, MohsseniPour M, Mirzapour P, Barzegary A, Habibi P, *et al.* Genetic susceptibility of COVID-19: a systematic review of current evidence. *Eur J Med Res* 2021; 26(1): 46. doi: 10.1186/s40001-021-00516-8
36. Viner RM, Mytton OT, Bonell C, Melendez-Torres GJ, Ward J, Hudson L, *et al.* Susceptibility to SARS-CoV-2 Infection Among Children and Adolescents Compared With Adults: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatr.* 2021. Feb 1;175(2):143-156.
37. Gilbert C, Lefevre C, Preisser L, Pivert A, Soletti R, Blanchard S, *et al.* Age-Related Expression of IFN- λ 1 Versus IFN-I and Beta-Defensins in the Nasopharynx of SARS-CoV-2-Infected Individuals. *Front Immunol.* 2021; 12:750279. doi: 10.3389/fimmu.2021.750279.
38. Nomah DK, Reyes-Urueña J, Llibre JM, Ambrosioni J, Ganem FS, Miró JM, *et al.* HIV and SARS-CoV-2 Co-infection: Epidemiological, Clinical Features, and Future Implications for Clinical Care and Public Health for People Living with HIV (PLWH) and HIV Most-at-Risk Groups. *Curr HIV/AIDS Rep.* 2021; 18(6):518-526. doi: 10.1007/s11904-021-00579-6.
39. Alkindi S, Elsadek RA, Al-Madhani A, Al-Musalhi M, AlKindi SY, Al-Khadouri G., *et al.* Impact of COVID-19 on vasoocclusive crisis in patients with sickle cell anaemia. *Int J Infect Dis* 2021; 106: 128–133.
40. Mucalo L, Brandow AM, Dasgupta M, Mason SF, Simpson PM, Singh A, *et al.* Comorbidities are risk factors for hospitalization and serious COVID-19 illness in children and adults with sickle cell disease. *Blood Adv.* 2021; 5(13): 2717-2724.
41. Minniti CP, Zaidi AU, Nouraie M, Manwani D, Crouch GD, Crouch AS *et al.* Clinical predictors of poor outcomes in patients with sickle cell disease and COVID-19 infection. *Blood Adv.* 2021; 5(1):207-215.
42. Arlet JB, de Luna G, Khimoud D, Odièvre MH, de Montalembert M, Joseph L, *et al.* Prognosis of patients with sickle cell disease and COVID-19: a French experience. *The Lancet Haematol.* 2020; 7(9):e632-e634.
43. Mouliou DS, Gourgoulis KI. False-positive and false-negative COVID-19 cases: respiratory prevention and management strategies, vaccination, and further perspectives. *Expert Rev Respir Med.* 2021;15(8):993-1002.

ORIGINAL ARTICLE

Epidemiological Patterns of Malaria Infection diagnosed at La Rabta Teaching Hospital in Tunisia

Caractéristiques épidémiologiques des cas de paludisme diagnostiqués au CHU La Rabta de Tunis

Hind Bouguerra^{1,2}

Aicha Kallel^{1,2}

Sana Jemel^{1,2}

Sonia Marouen¹

Aida Berriche^{1,3}

Mariem Massoued¹

Baraa Hmissi¹

Slah Belhadj¹

Hanène Tiouiri^{1,3}

Kalthoum Kallel^{1,2}

¹ Laboratoire de Parasitologie-Mycoologie, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie

² Faculté de Médecine de Tunis, Université Tunis El Manar

³ Service des Maladies Infectieuses, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie

Submitted January 20th
accepted May 6th 2023

Corresponding author :

Aicha Kallel, Associate Professor

Address :

Department of Parasitology
Mycology, La Rabta Hospital, Tunis,
Tunisia

Courriel :

aicha.kallel@fmt.utm.tn

Abstract

Introduction :

Since the last indigenous case in 1979, there has been no active transmission of malaria in Tunisia. However, imported malaria cases are increasing. Our study aimed to describe malaria cases detected in la Rabta Hospital from 2015 to 2018 and to assess adherence of Tunisian travelers to malaria prophylaxis.

Methods: We conducted a descriptive and retrospective study of cases of malaria diagnosed in the laboratory of Parasitology and Mycology of La Rabta Hospital in Tunisia during four years (2015 to 2018). Patients were addressed from several departments of the same hospital as well as other public and private health facilities. Data were collected from patients' information forms at the Laboratory which included demographic data, travel history, preventive measures taken and symptoms. Patients were tested by direct microscopic examination of thick and thin blood smears and rapid diagnostic tests.

Results :

A total of 339 patients consulted at the laboratory. Blood smears were positive among 124 patients (36.6% [31.9- 41.6]). Most of the cases were positive to *Plasmodium falciparum* (81.5%). The highest positivity rate was recorded in 2017 (p=0.003). Most positive cases were males (83%; p=0.001) and aged from 15 to 45 years (76.4%). More than half of positive cases were Tunisians (54%). All the cases travelled or were originated from sub-saharian countries except one transfusion-transmitted malaria Tunisian patient. Among Tunisian positive cases, pre-travel consultation, chemoprophylaxis and personal protection were used in 25.7%, 22.7% and 42.4% of the cases respectively.

Conclusions :

In the absence of national data, our study provided an overview of the current malaria situation in Tunisia. Imported malaria cases are increasing and transfusion-transmitted malaria is still observed. With competent anopheles species still existing in the country, a strict surveillance is highly needed as well as regulations on blood donor screening and education of travelers regarding malaria prophylaxis.

Keywords: Malaria, *Plasmodium*, prevention, transfusion, travel, Tunisia

Résumé

Introduction :

Depuis le dernier cas autochtone en 1979, il n'a pas été rapporté de transmission active de paludisme en Tunisie. Cependant, les cas importés de paludisme semblent augmenter ces dernières années. Notre objectif était de décrire les cas de paludisme importé diagnostiqués à l'Hôpital La Rabta durant une période de 4 ans (2015 à 2018) et d'évaluer l'adhérence des voyageurs tunisiens à la prophylaxie anti-paludique.

Méthodes :

Il s'agit d'une étude rétrospective descriptive des cas de paludisme diagnostiqués au Laboratoire de Parasitologie-Mycoologie de l'Hôpital La Rabta durant 4 ans (2015-2018). La collecte de données était basée sur la fiche d'information des patients. En plus des données démographiques, nous avons collecté les variables concernant les antécédents de voyage, les mesures de prophylaxie et les symptômes cliniques. Tous les patients ont été testés par goutte épaisse, frottis sanguin et test de diagnostic rapide.

Résultats :

Au total, 339 patients ont consulté au laboratoire pour suspicion de paludisme, dont 124 cas étaient positifs (36.6% [31.9-41.6]). *Plasmodium falciparum* était l'espèce la plus fréquemment identifiée (81,5%). Les taux de positivité les plus élevés ont été notés en 2017 (p=0.003). La majorité des cas positifs étaient de sexe masculin (83% ; p=0,001) et âgés de 15 à 45 ans (76.4%). Les cas positifs étaient tunisiens dans 54% des cas. Tous les cas diagnostiqués étaient originaires ou ont voyagé en Afrique sub-saharienne à l'exception d'un cas de paludisme post-transfusionnel. Chez les Tunisiens ayant eu un paludisme d'importation, la consultation pré-voyage, la chimioprophylaxie et la prophylaxie antivectorielle ont été notées dans 25.7%, 22.7% et 42.4% des cas respectivement.

Conclusion :

Notre étude a montré que les cas de paludisme importés en Tunisie n'étaient pas négligeables et même en augmentation. Nos résultats ont aussi permis d'avoir une meilleure compréhension et une idée globale sur la situation actuelle. Cette étape est essentielle pour cibler les actions de prévention et de lutte dans le but d'éviter la réintroduction du paludisme en Tunisie.

Mots-clés : Malaria, *Plasmodium*, prévention, transfusion, voyage, Tunisie

INTRODUCTION

Malaria is still a significant cause of mortality worldwide and a cause of morbidity in returned travellers and migrants in non-endemic areas (1). According to the World Health Organization (WHO) World Malaria Report 2017, most of malaria cases remain in the WHO African Region with 90% in 2016, followed by the WHO South-East Asia Region (7%) and the WHO Eastern Mediterranean Region (2%) (2). It is estimated that 44% of the population of the Eastern Mediterranean Region are living in areas at risk of local malaria transmission in 2015(3).

In Tunisia, malaria was for a long-time endemo-epidemic (4) but thanks to the efforts of the national program of malaria eradication established since 1968, the country became malaria-free in 1979 (4, 5). Besides four cases of airport malaria notified in 2013, no local case has been registered since the elimination (6, 7).

However, the specific geographic location of Tunisia increases the risk of reintroduction of this disease, especially with the continual population movement from and to malaria-endemic countries. In fact, international travel, growing rapidly worldwide, has made distant endemic regions easy to reach and hosting an increasing number of travellers. In Europe, it is estimated that over 10 million people travel annually to endemic areas leading to nearly 15 thousands imported malaria cases per year (8).

Likewise, imported malaria cases seem to increase in Tunisia. With the persistence of a local anophelism (9), these cases may lead to the reappearance of autochthonous malaria such as seen in the neighboring country Algeria (10) and other countries of the Mediterranean region; France (11) and Greece (8) where malaria was previously eliminated. The main challenge is therefore to prevent the reintroduction of malaria transmission mainly through strengthening malaria surveillance, preventive measures for travellers and collaboration in border areas (12). Better understanding of epidemiological profile of imported malaria cases is essential to adapt these action plans.

The current study aimed to describe malaria cases detected in la Rabta Hospital from 2015 to 2018 and to assess adherence of Tunisian travelers to malaria prophylaxis.

METHODS

It was a descriptive study of the diagnosed imported malaria cases among all cases consulting for malaria testing in the Laboratory of Parasitology of the Teaching Hospital "La Rabta" in Tunis from January 2015 to December 2018.

The Laboratory of Parasitology of la Rabta Hospital, one of the four main laboratories responsible for diagnosing malaria in Tunis capital, is characterised by its linkage to the only Infectious Diseases Department of

the capital, located in the same hospital. Patients were addressed from this department as well as other medical departments of la Rabta hospital and other public and private health facilities.

Data were collected from the patient information forms at the Laboratory. These forms included demographic data such as age, gender, nationality, profession, travel history (date of arrival in Tunisia or date of return from travel, travel duration, country of destination or origin, reasons of travel), clinical and biological data, laboratory results (identified species) as well as information on chemoprophylaxis and personal protection for Tunisian travelers.

Malaria diagnosis was based on direct microscopic examination of thick and thin blood smears (BS) (Giemsa and MGG colorations respectively) ; these techniques are the reference methods recommended by the WHO. Rapid diagnostic test (RDTs) (OptiMAL-IT, Biorad) was also performed. This test represents a diagnostic aid due to its simplicity, speed and good sensitivity. Besides, an estimation of the percentage parasitaemia of *Plasmodium* in Giemsa-stained thin blood films was carried out.

We used a computerized database (Access; Microsoft) for data entry and storage and SPSS-20 software for data analysis. A descriptive analysis was conducted to assess gender distribution, age, profession, reasons for travel for all consulting patients in addition to *Plasmodium* species for positive malaria cases. Quantitative data were presented by mean values and standard deviation. Qualitative variables were expressed as relative and absolute frequencies and were compared using Chi-square test or logistic regression. The significance level was set at $p < 0.05$. All the participants were assigned a unique ID to ensure anonymity and confidentiality.

RESULTS

Description of all patients tested for malaria

During the study period of 4 years (2015-2018), a total of 339 subjects consulted at the laboratory for malaria testing with an average of 84.75 cases per year. Male to female sex ratio was equal to 2.6. Age ranged from 1 to 71 years with an average of 34.6 ± 13.2 years. More than two thirds of the cases were aged between 30 and 45 years ($n=137$). Most cases consulted during autumn and summer (58.4%) with two peaks in October (12.4%) and August (11.2%). More than half of the cases were Tunisians (58.7%) (Table 1).

Almost all of Tunisian cases had travel history (92.9%). The remaining tested patients ($n=14$) were mainly weakened (after transplantation, leukemia) or had prolonged unexplained fever. Among the 185 Tunisians with travel history, only five cases traveled to Asia (India, $n=2$ and Saudi Arabia, $n=3$). All the others traveled to African countries (Figure 1).

Table 1: Demographic characteristics and time of consultation of cases tested for malaria, La Rabta Hospital, 2015-2018

	n	%
Gender		
Female	93	27.4
Male	246	72.6
Age (n=335)		
[0-15[15	
4.5		
[15-30[109	32.5
[30-45[137	40.9
≥45	74	21.1
Nationality		
Tunisian	199	58.7
Foreigner	140	41.3
Year		
2015	71	20.9
2016	89	26.3
2017	90	26.5
2018	89	26.3
Season		
Winter	56	16.5
Spring	85	25.1
Summer	97	28.6
Autumn	101	29.8

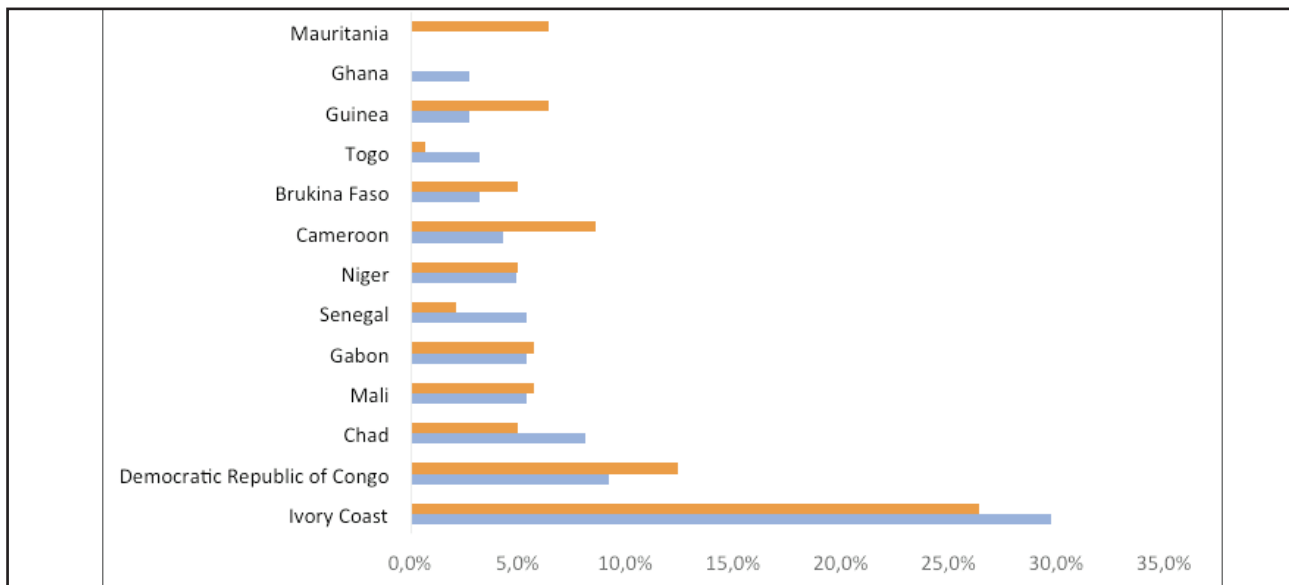


Figure 2: Postivity rates by year, La Rabta Hospital, 2015-2018

BS: Blood Smear; RDT: Rapid Diagnostic Tests

Pre-travel medical consultation was reported among 36.8% of Tunisian travelers while 9.7% were informed of malaria risk through Internet (Table 2). Tunisian travellers used chemoprophylaxis in 39.5% of the cases mainly

Mefloquine (52%). The molecule was not precised in 35.6% of the cases. Anti-vector prophylaxis was used in 47% of the cases; long sleeves (31.4%), mosquito nets (27%), repellent (27%), not going out at night (9.2%).

Table 2 : Malaria prophylaxis among Tunisian travelers

	Consulting patients (n=185)		Positive cases (n=66)	
	n	%	n	%
Pre-travel medical consultation	68	36.8	17	25.7
Information of malaria risk through Internet	18	9.7	6	9.1
Chemoprophylaxis	73	39.5	15	22.7
Personal protection	87	47	28	42.4

Description of positive malaria cases

All the 339 patients consulting from 2015 to 2018 were tested by thick smear and blood smear (BS) and 324 were tested by RDTs (95.6%). Thick and blood smears were positive for 124 cases (36.6% [31.9- 41.6]) and RDTs were positive for 113 cases (34.9% [29.6- 40.4]).

The highest positivity rates were recorded in 2017 (p=0.003 and p=0.001 resectively for BS and RDTs) (Figure 2). Positivity rates were also significantly associated with season of diagnosis time (p=0.001 and p=0.002 resectively for BS and RDTs). The highest rates were recorded during autumn (48.5% for both tests).

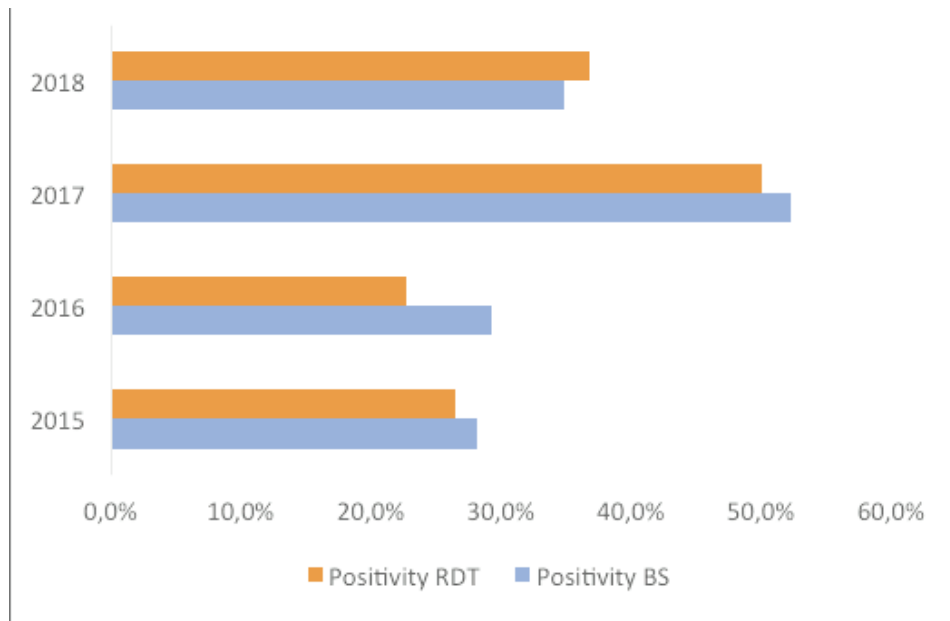


Figure 2: Postivity rates by year, La Rabta Hospital, 2015-2018
BS: Blood Smear; RDT: Rapid Diagnostic Tests

Most positive cases were males (83%; p=0.001). Positive cases were aged between 10 and 64 years with an average of 34.2 ± 12 years (p=0.65). The age groups 15 to 30 and 30 to 45 years were the most affected (38.2 % each) (p=0.12) (Table 3). More than half of positive cases were Tunisians (54%). Positivity rates did not differ significantly with the origin (40.7% among foreigners versus 33.7% for Tunisians, p=0.81).

Among the 14 Tunisian cases without travel history, only one was positive. It was a 26-year- old Tunisian man, allografted and having received globular pellets and platelet units during his hospitalization. With the occurrence of a fever resistant to antibiotics by 15 days post-graft, a blood smear was carried out and showed trophozoites of *P. falciparum* with a 20% parasitemia.

Table 3: Demographic and clinic characteristics among cases with positive Blood Smears

	N	%	p
Gender (N=124)			0.001
Female	21	16.9	
Male	103	83.1	
Age (N=123)			0.12
[0-15[2	1.6	
[15-30[47	38.2	
[30-45[47	38.2	
≥45	27	22.0	
Nationality (N=124)			0.18
Tunisian	67	54.0	
Foreigner	57	46.0	
Countries of Origin /Destination			0.17
Ivory Coast	40	32.5	
Congo	18	14.6	
Gabon	10	8.1	
Cameroun	7	5.7	
Chad	7	5.7	
Mali	6	4.8	
Burkina Faso	4	3.3	
Mauritania	4	3.3	
Others	27	22.0	
Profession (N=109)			0.03
Unemployed	3	2.7	
Higher professional occupations	29	26.6	
Intermediate occupations	27	24.8	
Low technical occupations	16	14.7	
Students	30	27.5	
High-level athlete	4	3.7	
Reasons of Travel (N=111)			0.51
Studies	29	26.1	
Work	56	50.4	
Tourism	14	12.6	
VFR	8	7.2	
Medical care	2	1.8	
Others	2	1.8	
Clinical Signs			
Fever (N=114)	91	79.8	0.004
Chills (N=92)	25	27.2	0.015
Headache (N=98)	34	34.7	<10-3
Altered consciousness (N=94)	18	19.1	<10-3
Nausea and/or vomiting (N=99)	41	41.4	0.001
Gastric pain (N=93)	17	18.3	0.72
Anemiae (N=93)	10	10.8	0.43
Thrombopenia (N=94)	11	11.7	0.16
Leucopenia (N=90)	5	5.6	0.25

The epidemiological investigation found a foreigner originating from Ivory Coast among the blood donors who had a positive indirect immunofluorescence (1/20) and the real-time PCR was positive for *P. falciparum*. Diagnosis of transfusion-transmitted malaria was thus retained.

The remaining Tunisian positive cases travelled mainly to Ivory Coast (39.4%) and Democratic Republic of Congo (15.2%). Those who travelled to Asian countries had negative BS. Positive foreigners were also mainly from Ivory Coast (24.6%) and Republic Democratic of Congo (14%). Less than one third of Tunisian positive cases had pre-travel consultation (25.7%) and used chemoprophylaxis (22.7%) (Table 2). Proportion of pre-travel consultation was significantly lower among positive cases, 25% vs 41.9% among negative cases (p=0.021) as well as chemoprophylaxis (20.5% vs 45.5%; p=0.001). However, there was no significant difference in the use of personal protection (p=0.44).

Fever was the most common clinical sign, present in 79.8% of positive cases. Other clinical signs included

nausea and/or vomiting, headache, chills, and gastric pain (Table 3). The mean time from arrival to Tunisia to diagnosis was significantly higher among positive cases (p=0.01) (11.8 vs 8.8 days). There was no significant difference in mean times from arrival to onset of clinical signs (p=0.7) (7.1 among positive vs 7.5 days among negative patients).

Positive laboratory results

Plasmodium falciparum was the most frequent species (82.2%) identified in 101 imported cases and the post-transfusion malaria case. Parasitemia was mainly between 1 and 4 (85%) and >4 in 8.4% of the cases.

The remaining cases were positive to *P. ovale* (n=7), *P. vivax* (n=4) and *P. malariae* (n=3). The species was not identified in 7.3% of the cases (n=9). *P. falciparum* positive cases were mainly originating or travelling to Ivory Coast (31.7%) and Democratic Republic of Congo (15.8%). Ivory Coast was also the main country of infection by *P. ovale* (5/7) while cases of *P. vivax* were originating or travelling to Mauritania (3/4) and Djibouti (1/4) (Table 4).

Table 4 : Parasites types by country of origin or travel (N=123)

	<i>P. falciparum</i>	<i>P. ovale</i>	<i>P. vivax</i>	<i>P. malariae</i>	Not specified
Ivory Coast	32	5		1	2
Congo	16				2
Gabon	9			1	
Chad	6	1			
Guinea	6				1
Cameroun	5			1	1
Mali	5	1			
Togo	4				
Burkina Faso	3				1
Benin	3				
Mauritania	1		3		
Djibouti			1		
Soudan					1
Others	11				
Total	101	7	4	3	8

Evolutionary stage of *Plasmodium* was reported in 91.1% of positive cases. The majority were trophozoites (90.3%). Trophozoites were associated with gametocytes in 6.2%. Isolated gametocytes were found in 1.8%. Most of the cases had at least one laboratory results control (73.4%). The majority had only one control (51.7%) on Day 3 after starting treatment and only five patients had 4 controls (on day 3,7, 14 and 28). First control of BS was positive in 9.9% (9/91) and RDTs in 17.6% of the cases (16/91). The third and fourth controls of both BS and RDTs were negative for all the cases who had control.

DISCUSSION

Since the last autochthonous malaria case in 1979, imported malaria has been on the rise in Tunisia. However, estimations of the total number of these cases are limited, and there is considerable underreporting in the mandatory disease reporting at the national level. Despite the retrospective nature of the study and its restriction to one department of the capital, our study provided important results on the increasing number of imported malaria cases in our laboratory. In fact, during the 4-year study period, we registered 124 cases with the highest numbers in 2017

and 2018, while previous studies conducted in the same department showed 130 cases in 10 years (1980 – 1989) and 291 cases in 15 years (1991 – 2006) (13, 14).

This increase can be explained by a growing number of sub-saharian african students coming to Tunisia for university and higher education (especially West Africa and other francophone countries). On the other hand, commercial and professional exchanges with subsaharian countries are extending rapidly these last years, and this can be partly attested by the establishment of new direct flights between Tunis and some african capitals such as Abidjan, Bamako, Dakar, Nouakchott, and Ouagadougou. Indeed, the vast majority of our cases were originating or travelling to sub-Saharan countries. This was also reported in other series in Tunisia (15), in Morocco (16) as well as in Europe (17, 18). Ivory Coast and the Democratic Republic of Congo were the most frequently implicated countries in malaria contamination, serving as both the origin and destination of travel. Additionally, a Moroccan review between 1997 and 2007 found that the majority of foreigners also came from these countries (19).

Besides, one transfusion-transmitted malaria (TTM) case was observed. In Tunisia, the first TTM case was reported in the 90s and so far, 11 cases have been registered (20). This route of transmission, although accidental and negligible, continues to be a threat in non-endemic countries (21). In fact, the possibility of carriers of Plasmodium among blood donors is quite high, considering the parasite's persistence for at least one year (depending on the species) and the increasing travel and immigration from sub-Saharan Africa. Blood donor screening is the most suitable strategy and should be adapted to each country according to its national guidelines (22).

Imported malaria cases were mostly detected during summer and autumn. Similar findings were reported in other Tunisian series as well as in the mediterranean region (4, 8). These months correspond with the return of Tunisians travellers and the arrival of students from malaria endemic countries. It also corresponds with the season of mosquitos activity, including Anopheles vectors. Several entomological studies reported the presence of anopheles in the country with some species keeping the anthropophilic property such as *A. sergenti*, *A. labranchiae* especially in the north region (4,5). Simultaneous presence of these anopheles with infected persons increases the risk of local transmission. This risk is becoming higher these last years with the changing ecological and climatic factors which may facilitate the resurgence of the transmission (9).

The majority of imported malaria cases were men, young adults. Most of the reviews report similar results not only at the national but also the international level (19, 23). This predominance expresses travel characteris-

tics rather than specific risk factors. In fact, in Tunisia and Morocco, this is mostly due to movement of foreign students and Tunisian professionals whereas in Arabian Gulf countries men were mainly expatriates working in construction sector and originating from Asian countries (23). Regarding preventive measures, chemoprophylaxis was used by less than a quarter of Tunisian travellers. These rates remain low like seen among European travellers (8). Similarly to other series, Mefloquine was the most used drug, partly due to the standard protocol of chemoprophylaxis for Tunisian travellers which is based on Chloroquine for zone 1 and Mefloquine for zone 2 and 3, and since it is provided for free for all travellers to endemic regions by the National Program of Malaria Control and Prevention. Pretravel consultation and personal protection rates remain also low. This is mainly explained by a lack of health education as well as lack of awareness of malaria risk by travellers, which was found as a risk factor for malaria infection in a french series (24).

Plasmodium falciparum was the most predominant species, as reported in many studies in North Africa as well in Europe (18, 19, 25). This species often results from an african contamination and responsible of most severe malaria forms in addition to a growing concern of Chloroquine resistance. In about 8% of the cases, the species was not identified, probably due to a low level of parasitemia and rare trophozoites in the blood smears. This is often seen among asymptomatic foreigners students. Besides, some blood smears showed gametocytes, whether isolated or not which could be another risk factor for malaria resurgence. In our study, RDTs were less sensitive (positive cases=113) than microscopic examination of a thin blood smear and thick blood smear (positive cases = 124) which remains the method of reference in term of sensitivity and specificity. These tests detecting *Plasmodium* antigens are simple and fast. But their sensitivity depends on parasitemia of the infected patients, thus they are used as complementary tests and are not recommended in the screening (26).

Duration of monitoring depends on the drugs taken and their pharmacological properties. Usually, a monitoring of 28 days is recommended. In our study, 95.3% of the cases had at least one control. This rate was higher than seen in previous series (4). Close monitoring is useful to evaluate the treatment efficacy and to detect a possible drug resistance.

CONCLUSION

During the 4-year study period, 339 patients consulted for malaria testing with a positivity rate of 36.6% and the highest numbers registered in 2017 and 2018. Except the transfusion-transmitted malaria case, all the positive cases had traveled or were originated from sub-Saharan African countries. Adult males were the most affected,

mainly Tunisians travelling for work or students coming to Tunisia for university and higher education. In the absence of national *data*, our study provided an overview of the current malaria situation in Tunisia. Imported malaria cases are increasing and transfusion-transmitted malaria is still observed. Since anthroponophilic anophelid species still exist in the country, a strict surveillance is highly needed to avoid any potential risk of reintroduction of this parasitosis in the country. Screening and early treatment of positive cases orig-

inating or travelling to endemic regions are highly needed. Regulations on blood donor screening should also be updated and adapted to the national context. Malaria prophylaxis remain low among Tunisian travellers. Targeted education and awareness especially on chemoprophylaxis and personal protection need to be improved with expanding travel medicine counseling, more training of health professionals and better communication to the public.

REFERENCES

- Walker NF, Nadjm B, Whitty CJM. *Malaria*. *Medicine*.2018; 46(1):52-58.
- World Health Organization. *World Malaria Report 2017*. Available at: <https://www.who.int/malaria/publications/world-malaria-report-2017/en/>
- World Health Organization East Mediterranean Region. *Regional malaria action plan 2016–2020: Towards a malaria-free Region*. Available at: <http://www.emro.who.int/malaria/about/malaria-in-the-eastern-mediterranean-region.html>
- Dridi K, Fakhfakh N, Belhadj S, Kaouech E, Kallel K, Chaker E. Le paludisme en Tunisie: A propos de 432 cas diagnostiqués au CHU La Rabta de Tunis (1991-2012). [Imported malaria in Tunisia: about 432 cases diagnosed in Rabta hospital in Tunis (1991- 2012)]. *Rev Tun Biol Clin*. 2015;22:16-22.
- Ministry of Health, Tunisia. *National guide of malaria management in Tunisia, 2016*. [Guide National de Prise en Charge du Paludisme en Tunisie, 2016]. Available at <http://www.santetunisie.ms.tn/images/ansidoc/gp842016.pdf>.
- Gzara Zargouni A, Tej Dellagi R, Ben Alaya N, Ben Jemaa N, Gamara D, Ben Salah A, *et al*. Paludisme autochtone en Tunisie : à propos de 4 cas enregistrés à Tunis en 2013. [Aboriginal malaria in Tunisia: about the 4 cases registered in 2013 in Tunisia]. *Tun Med*.2015;93:543-7.
- Siala E, Gamara D, Kallel K, Daaboub J, Zouiten F, Houzè S, *et al*. Airport malaria: report of four cases in Tunisia. *Malar J*. 2015; 14:42. doi: 10.1186/s12936-015-0566-x. .
- Odolini S, Gautret P, Parola P. Epidemiology of imported malaria in the Mediterranean region. *Mediterr J Hematol Infect Dis*. 2012; 4(1):e2012031. doi: 10.4084/MJHID.2012.031..
- Chahed MK, Bouratbine A, Krida G, Hamida AB. Réceptivité de la Tunisie au paludisme après son éradication: analyse de la situation pour une adéquation de la surveillance.[Receptivity to malaria after eradication: current situation in Tunisia]. *Bull Soc Pathol Exot*. 2001;94(3):271-276.
- Hammadi D, Boubidi S, Chaib SE, Saber A, Khechache Y, Gasmi M, *et al*. Le paludisme au Sahara algérien. [Malaria in Algerian Sahara]. *Bull Soc Pathol Exot*. 2009;102:185-192.
- Armengaud A, Armengaud A, Legros F, D'ortenzio E, Quatresous I, Barré H, Valayer P, *et al*. Survenue en Corse d'un cas de paludisme autochtone à Plasmodium vivax, France, août 2006.[Occurrence of a case of Plasmodium vivax aboriginal malaria in Corse in August 2006]. *Med Mal Infect*. 2007; 37:51-58.
- World Health Organization East Mediterranean Region (WHO-EMRO). *Guidelines on prevention of the reintroduction of malaria, 2007*. Available at: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/119851>
- Chahed MK, Kebir A, Sidhom M. Profil épidémiologique du paludisme d'importation en Tunisie de 1980 à 1989. [Epidemiological profile of imported malaria in Tunisia from 1980 to 1989]. *Tun Med*.1991.69:187.
- Belhadj S, Menif O, Kaouech E, Anane S, Jeguirim H, Ben Chaabane T, *et al*. Le paludisme d'importation en Tunisie: bilan de 291 cas diagnostiqués à l'hôpital la Rabta de Tunis (1991-2006).[Imported malaria in Tunisia: about 291 cases diagnosed in la Rabta hospital in Tunis (1991-2006)].*Rev Fr Lab*.2008 ; 38 (399):95-98.
- Ayadi A, Makni F, Sellami H, Cheikh-Rouhou F, Ben Hamed S. Le paludisme d'importation à Sfax (Tunisie).[Imported malaria in Sfax (Tunisia)].*Med Trop*.2000;60:99.
- El Guamri Y, Amahmid O, Zenjari K, Bouhout S, Ait Mouh M, Ait Melloul A, *et al*. Le paludisme importé dans la région de Marrakech-Safi, Maroc, entre 1996 et 2016. [Imported Malaria in the Region of Marrakech-Safi, Morocco, between 1996 and 2016]. *Bull Soc Pathol Exot*. 2018;111(2):104-8.
- Stano P, Arzese A, Merelli M, Mascarello M, Maurel C, Avolio M, *et al*. Epidemiological and clinical features of imported malaria at the three main hospitals of the Friuli-Venezia Giulia Region, Italy. *Infection, Disease & Health*.2018;23(1):17-22.
- Vygen-Bonnet S, Stark K. Changes in malaria epidemiology in Germany, 2001–2016: a time series analysis. *Malar J*. 2018 ; 17(1):28. doi: 10.1186/s12936-018-2175-y.
- El Ouali Lalami A, Cherigui M, Koraichi SI, Maniar S, El Maimouni N, Rhajaoui M. Le paludisme importé dans le Centre Nord du Maroc entre 1997 à 2007. [Imported malaria in northern central Morocco, 1997-2007]. *Santé*. 2009;19(1):43-47.
- Fakhfakh N, Kallel A, Ziraoui M, Balloumi D, Ledeb S, Ben Othmane T, *et al*. Le paludisme post transfusionnel : Etat actuel en Tunisie (nouveau cas déclaré en 2016).[Post-transfusion malaria: Current state in Tunisia (new case reported in 2016)]. *Tun Med*. 2019; 97(01): 149-52.
- Verra F, Angheben A, Martello E, Giorli G, Perandin F, Bisoffi Z. A systematic review of transfusion-transmitted malaria in non-endemic areas. *Malar J*. 2018 ; 17(1):36. doi: 10.1186/s12936-018-2181-0.
- O'Brien SF, Delage G, Seed CR, Pillonel J, Fabra CC, Davison K, *et al*. The Epidemiology of Imported Malaria and Transfusion Policy in 5 Nonendemic Countries. *Transfus Med Rev*.2015;29(3):162 - 71.
- Al-Kuwari MG. Epidemiology of Imported Malaria in Qatar. *J Travel Med*. 2009; 16(2):119-122.
- Pistone T, Ezzedine K, Gaudin AF, Herberg S, Nachbaur G, Malvy D. Malaria prevention behaviour and risk awareness in French adult travellers. *Travel Med Infect Dis*. 2010;8(1):13-21.
- Abo Hashim AH, Zaalouk TK, Saad MY. Imported Malaria in Egypt. *Egyptian Journal of Hospital Medicine*.2017;67(1):455-458.
- E Siala, R Ben Abdallah, A Bouratbine, K Aoun. Actualités du diagnostic biologique du paludisme. *Rev Tun Infect*. 2010;4: 5-9.

ARTICLE ORIGINAL

Impact des paramètres de l'hémogramme sur le pronostic intra hospitalier de l'infarctus du myocarde

Impact of blood count parameters on the intra-hospital prognosis of myocardial infarction

Sonia Chouaieb¹

Wiem Lazzem¹

Mariem Belhédi¹

Zeineb Ben Hamida¹

Khadija Mzoughi²

Ihsen Zairi²

Sondes Kraiem²

Mohamed Yassine Kaabar³

Ikbel Ghachem³

Asma Belhadj³

¹ Service des laboratoires, hôpital
Habib Thameur, Tunis, Tunisie

² Service de cardiologie, hôpital
Habib Thameur, Tunis, Tunisie

³ Laboratoire de biologie médicale,
Hôpital Mohamed Taher Maamouri
Nabeul, Tunisie

Soumis le 7 mars 2023

accepté le 19 juin 2023

Auteur correspondant :

Dr Sonia Chouaieb

Adresse :

Service des laboratoires,
hôpital Habib Thameur Tunis

Courriel :

chouaieb.sonia@yahoo.com

Résumé

Introduction :

L'infarctus du myocarde, est une cause importante de décès dans le monde. L'objectif de notre travail était d'évaluer l'impact des anomalies de l'hémogramme, jusqu'à aujourd'hui peu étudiées en Tunisie, sur le pronostic des patients admis pour syndrome coronarien aigu.

Patients et méthodes :

Il s'agit d'une étude rétrospective, ayant inclus les patients admis pour un infarctus du myocarde, au service de cardiologie de l'hôpital Habib Thameur. Les données épidémiocliniques et biologiques ont été recueillies à partir des dossiers médicaux et du système informatique de l'hôpital. L'implication des anomalies de l'hémogramme dans la survenue d'événements cardiovasculaires et dans les décès a été analysée en univarié puis en multivarié par régression de Cox pas à pas descendante.

Résultats :

Notre étude a inclus 100 patients souffrant d'infarctus du myocarde avec un sex-ratio de 2,57 et un âge moyen de 64 ans. Les anomalies de l'hémogramme détectées étaient : l'anémie chez 41% avec une prédominance féminine de 53,5%, l'hyperleucocytose (37%), l'hyperplaquetose (2%), et la thrombopénie (4%). De plus, 26% des patients ont développé des événements cardiovasculaires et avaient tous des anomalies de l'hémogramme. La complication la plus fréquente était l'œdème aigu pulmonaire (33%). L'anémie et l'hyperleucocytose étaient significativement associées à la survenue de complications avec $p=0,002$ respectivement en analyse multivariée. Aucune anomalie n'était significativement associée au décès.

Conclusion :

L'anémie et l'hyperleucocytose étaient les anomalies de l'hémogramme les plus fréquentes chez les patients admis pour infarctus du myocarde et étaient significativement associées au mauvais pronostic de ces patients.

Mots-clés : anomalies de l'hémogramme, anémie, infarctus du myocarde, pronostic.

Abstract

Introduction :

Myocardial infarction is an important cause of death in the world. The objective of our work was to evaluate the impact of blood count abnormalities, until now little studied in Tunisia, on the prognosis of patients admitted for acute coronary syndrome.

Patients and method :

This is a retrospective study carried out from April 12 to October 20, 2019, including patients admitted for myocardial infarction, in the cardiology department of Habib Thameur hospital. Epidemiological and biological data have been collected from medical records and the hospital's computer system. The involvement of blood count abnormalities in the occurrence of cardiovascular events and deaths was analyzed univariate and then multivariate by stepwise downward Cox regression.

Results :

Our study included 100 patients with a sex ratio of 2.57 and an average age of 64 years. The blood count abnormalities detected were anemia in 41% with a female predominance of 53.5%, hyperleukocytosis (37%), thrombocytosis (2%), and thrombocytopenia (4%). Moreover, 26% of patients developed cardiovascular events and all had blood count abnormalities. The most common complication was acute pulmonary edema (33%). Anemia and hyperleukocytosis were significantly associated with the occurrence of complications with respectively $p=0.002$ and $p=0.002$ in multivariate analysis. No abnormality was significantly associated with death.

Conclusion:

Anemia and hyperleukocytosis were the most frequent abnormalities in patients admitted for myocardial infarction and were significantly associated with the poor prognosis of these patients.

Keywords: Complete blood count abnormalities, anemia, myocardial infarction, prognosis.

INTRODUCTION

Les maladies cardiovasculaires représentent la première cause de mortalité dans le monde selon l'organisation mondiale de la santé 2017 (1). En Tunisie, elles sont incriminées dans 30% des décès. Dans 70 % des cas, il s'agit de maladies coronariennes (2).

L'infarctus du myocarde (IDM) est l'une de ces principales maladies (3). Malgré l'amélioration de la prise en charge thérapeutique, cette urgence coronarienne demeure une cause importante de morbi-mortalité à court et à long terme (3).

Certains facteurs de risque associés à un taux de mortalité important ont été identifiés tels que les changements environnementaux et en particulier comportementaux, l'adoption de nouvelles habitudes alimentaires et de modes de vie sédentaires, ainsi que le stress de l'urbanisation et des conditions de travail (2).

Au cours des dernières années, plusieurs études se sont intéressées à l'impact des paramètres biochimiques sur le pronostic des patients souffrant d'IDM tels que la glycémie et les facteurs de l'inflammation aussi bien à l'échelle nationale (4) qu'internationale (3,5 6). En revanche, peu d'études nationales se sont intéressées à l'impact des anomalies de l'hémogramme sur le pronostic de ces patients.

L'objectif de cette étude était de rechercher une éventuelle implication des anomalies de l'hémogramme dans le pronostic intra-hospitalier des patients admis pour IDM au sein du service de cardiologie de l'hôpital Habib Thameur.

PATIENTS ET MÉTHODES

Il s'agit d'une étude longitudinale rétrospective, réalisée au sein du service de cardiologie de l'hôpital Habib Thameur du 12 avril au 20 octobre 2019.

Patients

La population étudiée est constituée de patients ayant fait un IDM et dont la prise en charge a été assurée au service de cardiologie de l'hôpital Habib Thameur.

Critères d'inclusion

Ont été inclus les patients dont l'âge était supérieur à 18 ans, admis pour un IDM à la phase aiguë non compliqué défini selon les recommandations de l'ESC 2012, ayant consentis oralement pour la participation à l'étude.

Critères de non-inclusion

N'ont pas été inclus dans l'étude, les patients ayant refusé de participer et ceux admis pour :

- Un syndrome coronarien aigu à troponine négative ;
- Un IDM semi-récemment ;
- Un IDM compliqué.

Critères d'exclusion

Ont été exclus les patients dont le suivi intra-hospitalier n'a pas été possible, car sortis contre avis médical.

Méthodes

Recueil des données

Les données suivantes ont été recueillies à partir du dossier médical: âge, sexe, motif de l'admission, survenue de complications au cours de l'hospitalisation, sa nature et son délai de survenue, facteurs de risque cardio-vasculaires (diabète, hypertension artérielle (HTA), dyslipidémie, tabagisme, obésité, insuffisance rénale), antécédents cardio-vasculaires (Syndrome coronarien aigu (SCA), angioplastie coronaire transcutanée (ATC), pontage aorto-coronarien (PAC), accident vasculaire cérébral (AVC) ou accident ischémique transitoire, artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI), insuffisance cardiaque).

Les paramètres de l'hémogramme : hémoglobine, leucocytes et plaquettes, ont été recueillis à partir du système informatique de l'hôpital.

Nous avons conclu à la présence d'une anomalie au niveau de l'hémogramme en se référant aux définitions suivantes (7) :

- L'anémie est définie par une hémoglobine <12g/dL chez la femme ou une hémoglobine <13g/dL chez l'homme.
- La leucopénie est définie par un nombre de leucocytes <4 G/L.
- L'hyperplaquettose est définie par un nombre de plaquettes > 400 G/L.
- L'hyperleucocytose est définie par un nombre de leucocytes >10 G/L.

La thrombopénie est définie par un nombre de plaquettes <150G/L

Analyses au laboratoire

L'analyse des éléments figurés du sang a été réalisée par l'automate Sysmex XN1000.

Le prélèvement pour la numération formule sanguine a été réalisé sur un tube contenant de l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA).

Les critères de jugement

Les événements cardio-vasculaires majeurs survenus lors de l'hospitalisation pour chaque patient étaient définis par : un décès d'origine cardiovasculaire, un IDM non fatal, un état de choc cardiogénique, une insuffisance cardiaque aiguë, des troubles du rythme cardiaque, un bloc auriculo-ventriculaire (BAV), des troubles de la conduction, une fibrillation auriculaire (FA), des accidents ischémiques cérébraux, des complications hémorragiques majeures, ou un œdème aigu du poumon (OAP).

Analyse statistique

Les données ont été saisies et analysées au moyen du logiciel SPSS22.0. Nous avons calculé les fréquences simples et les fréquences relatives (pourcentages) pour les variables qualitatives. Pour les variables quantitatives, nous avons calculé les moyennes et les écarts-types (déviations standards) et déterminé l'étendue (valeurs extrêmes : minimum et maximum).

Nous avons également conduit une étude analytique, en comparant des effectifs et des moyennes. Le test t de Student a permis de comparer deux moyennes sur séries indépendantes. Le test chi-deux de Pearson a permis de comparer les pourcentages sur séries indépendantes. En cas de non-validité de ce test, le test exact bilatéral de Fisher a été utilisé. Pour les comparaisons de variables qualitatives entre deux ou plusieurs groupes, nous avons utilisé le test de Chi-deux de Pearson ou le test de Fisher exact, en cas d'effectifs inférieurs à 5. Quant aux comparaisons des variables quantitatives, nous avons employé le test t de Student et l'analyse de la variance (ANOVA) pour la comparaison des moyennes en cas de distribution normale et les tests de Mann Whitney et de Kruskal Wallis en cas de distribution non gaussienne. Enfin, l'analyse multivariée en régression de Cox par la méthode pas à pas descendante a été employée pour dégager les facteurs pronostiques indépendants de survenue des événements cardiovasculaires et de décès. A la première étape, les facteurs introduits étaient ceux dont les p étaient < à 0,2 en univariée. La méthode de Pearson a permis de rechercher la corrélation entre deux variables quantitatives. Le seuil de signification a été fixé à 0,05.

RÉSULTATS

Caractéristiques générales de la population

Dans notre étude, cent patients ont été inclus, durant la période allant du 12 avril au 20 octobre 2019. L'âge

moyen était de 64,1 ans ±11,5 avec des extrêmes allant de 35 ans à 90 ans et un sex ratio M/F égal à 2,57.

L'âge avancé était le facteur de risque le plus important. Quatre-vingt-douze pour cent des cas étaient âgés de plus de 55 ans chez les hommes et de plus de 65 ans chez les femmes. L'HTA et le tabagisme actif étaient retrouvés respectivement chez 64% et 54% des patients.

Les antécédents de SCA et d'angioplasties étaient retrouvés chez 16% des patients respectivement. Le SCA à troponine élevée sans sus-décalage du segment ST (SCA ST-) et le SCA avec sus-décalage du segment ST (SCA ST+) représentaient respectivement 51% et 49% des motifs d'admission.

Analyse de l'hémogramme et facteurs de risque de l'infarctus du myocarde

Soixante et onze pour cent des patients présentaient des troubles hématologiques à l'admission.

La valeur moyenne de l'hémoglobine était de 13,2 ±2,5 g/dL avec des extrêmes allant de 6,8 g/dL à 17,5 g/dL.

L'anémie était présente chez 41% des patients avec une valeur moyenne de l'hémoglobine de 10,68±1,57g/dL et des extrêmes allant de 6,8g/dl à 12,9g/dL.

En analyse univariée, les facteurs de risque de l'IDM étudiés chez les patients anémiques et non anémiques, sont représentés dans le Tableau 1. L'âge supérieur ou égal à 65 ans et l'HTA sont des facteurs de risque importants chez les patients anémiques avec respectivement p=0,013 et p=0,035.

Tableau 1: Tableau comparatif des caractéristiques des patients avec et sans anémie.

	Avec anémieN=41	Sans anémieN=59	p-value
Age moyen (ans)	70,68±10,38	59,54±9,98	0,000
Age ≥ 65ans	N=35	N=9	0,013
Diabète	N=24	N=28	0,054
Hypertension	N=31	N=33	0,035
Hérédité	N=1	N=3	0,516
Surpoids	N=3	N=5	0,844

L'hyperleucocytose était détectée chez 37% des patients avec une valeur moyenne de leucocytes égale à 13,54 ± 3,57 G/L et des extrêmes allant de 10,2 G/L à 23,8 G/L. En revanche, aucun patient n'a présenté de leucopénie. En analyse univariée, les facteurs de risque de l'IDM étaient analysés chez les patients avec et sans hyperleucocytose. Aucun facteur n'a été retenu comme significativement à risque.

Quatre pour cent des patients avaient une thrombopénie avec une moyenne de 133,25 ± 10 G/L et des extrêmes allant de 122 G/L à 146 G/L. L'hyperplaquettose a touché 2% des patients avec une moyenne de 459 ±11,3 G/L et des extrêmes allant de 451 G/L à 467 G/L.

En analyse univariée, l'âge inférieur à 65ans et les antécédents familiaux étaient les facteurs significativement à

risque de l'IDM, chez les patients avec thrombopénie avec des p-values respectives de 0,006 et 0,031. Pour les patients avec et sans hyperplaquettose, aucun facteur n'a été significativement à risque.

Les événements cardiovasculaires majeurs

Distribution des événements cardiovasculaires majeurs
Vingt-six pour cent des patients ont développé des événements cardiovasculaires majeurs et avaient tous des

anomalies de l'hémogramme. L'OAP était la complication la plus fréquente (33,3% ; n=10) suivie de l'insuffisance ventriculaire gauche (IVG) (23,3% ; n=7) et du choc cardiogénique (16,6% ; n=5).

Analyse des facteurs influençant la survenue d'événements cardiovasculaires majeurs :

En analyse univariée, les événements cardiovasculaires étaient étudiés chez les personnes ayant des anomalies de l'hémogramme (Tableau 2).

Tableau 2 : Analyse univariée des anomalies de l'hémogramme associées à la survenue d'événements cardiovasculaires

	Présence d'événements cardiovasculaires N=26	Absence d'événements cardiovasculaires N=74	p-value
Anémie (n=41)	16	25	0,020
Hyperleucocytose(n=37)	15	22	0,017
Thrombopénie(n=4)	0	4	0,570
Hyperplaquettose(n=2)	1	1	0,454

Les anomalies significativement associées à la survenue d'événements cardiovasculaires majeurs étaient l'anémie (p=0,020) et l'hyperleucocytose (p=0,017).

En analyse multivariée, les paramètres suivants ont été introduits dans la 1^{ère} étape de l'analyse pour rechercher une corrélation avec la survenue d'événements cardiovasculaires majeurs :

- i L'anémie
- ii Lathrombopénie
- iii Laleucopénie
- iv L'hyperleucocytose
- v L'hyperplaquettose

Les anomalies de l'hémogramme significativement associées à la survenue d'événements cardiovasculaires étaient l'anémie (p =0,002) et l'hyperleucocytose (p =0,002).

Les décès

Neuf pour cent des patients étaient décédés. Tous avaient des anomalies de l'hémogramme.

Toutefois, aucune association statistiquement significative n'a été retrouvée entre les anomalies de l'hémogramme et le décès.

DISCUSSION

Dans le présent travail, nous nous sommes proposés d'étudier la relation entre les anomalies de l'hémogramme et le pronostic intra-hospitalier des patients ayant eu un SCA.

Nous avons décrit, dans un premier temps, le profil épidé-

miologique, clinique, hématologique et évolutif des patients ayant eu un SCA admis à l'hôpital Habib Thameur. A partir de l'analyse de ces données, nous avons, dans un deuxième temps, dégager les facteurs de risque associés à la survenue d'événements cardiovasculaires majeurs.

Profil épidémio-clinique des patients

Dans notre étude, les patients avaient un âge moyen de 64 ans, avec une prédominance masculine. 49 % des patients étaient hospitalisés pour un SCAS+ et 51 % pour un SCAS- à troponine positive.

La Société Européenne de Cardiologie a rapporté en 2017 qu'avant l'âge de 60 ans, le SCA est 3 à 4 fois plus fréquent chez l'homme que chez la femme. Alors qu'au-delà des 75 ans, on note une prédominance féminine (8).

Dans notre étude, le principal facteur de risque était l'âge supérieur à 55 ans chez les hommes et 65 ans chez les femmes, suivi de l'HTA et du tabagisme actif avec respectivement des pourcentages de 92%, 64% et 54%.

Nos résultats étaient concordants avec ceux des études réalisées en 2018 (9, 10). Ces dernières ont conclu que les personnes âgées, étant plus sujettes aux comorbidités et à la fragilité capillaire, développaient plus de SCA.

D'après plusieurs études, l'HTA est le facteur de risque le plus fréquent (11, 12, 13). En effet, l'HTA et l'altération des artères interviennent dans la physiopathologie de l'IDM.

Dans notre étude, le SCA et l'angioplastie étaient à la tête des antécédents cardiovasculaires chacun avec un pourcentage de 16%.

De même, les études de Ntima *et al.*, (11) et ceux de Ralapanawar *et al.*, (12) ont rapporté que le SCA était l'un des antécédents le plus fréquent avec respectivement 32,7 % et 41 %.

Analyse des paramètres de l'hémogramme

Dans notre étude, la valeur moyenne de l'hémoglobine chez l'ensemble des patients était de 13,2 g/dL. En effet, 41% des patients étaient anémiques avec une valeur moyenne d'hémoglobine de 10,68 g/dL et une prédominance féminine de 53,5 %.

Le pourcentage des anémiques dans notre travail était assez élevé (41%). Ce résultat est concordant avec celui de l'étude de Ntima *et al.*, où le pourcentage des anémiques était de 44% (11).

Dans notre étude, les patients anémiques étaient à 53,5% de sexe féminin, avaient un âge moyen supérieur aux non anémiques (71 ans *vs* 60 ans), et avaient plus tendance à être diabétiques (59% *vs* 47 %) et hypertendus (76% *vs* 56%) que les non anémiques. En analyse univariée, l'âge supérieur ou égal à 65 ans ainsi que l'hypertension artérielle ont été retenus comme étant des facteurs significativement à risque chez les anémiques avec $p=0,013$ et $p=0,035$ respectivement.

En littérature, de manière similaire à notre travail, la prédominance féminine parmi les anémiques a été observée dans plusieurs études (11, 14, 15).

Cette prédominance féminine pourrait être expliquée par les changements physiologiques tels que : les menstruations, les changements hormonaux à la ménopause; ainsi que les grossesses et les accouchements qui font perdre à la femme des quantités considérables de sang, contribuant ainsi à l'apparition de l'anémie (16). En outre, les femmes de peur de gagner du poids, souffrent plus de malnutrition pouvant également causer l'anémie (17).

Les caractéristiques des anémiques dans notre travail concordent avec celles trouvées dans la littérature où l'anémie initiale était une constatation fréquente chez les patients plus âgés, à prédominance féminine avec une prévalence plus élevée de facteurs de risque et d'antécédents cardiovasculaires (11, 14, 15). Ceci pourrait être dû aux comorbidités dont souffrent les personnes âgées (insuffisance cardiaque, diabète, insuffisance rénale).

Une explication possible de la fréquence élevée de l'hypertension, de l'athérosclérose et l'artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI) chez les anémiques pourrait être le stress oxydatif lié à l'anémie chronique. Le stress oxydatif inhibant le monoxyde d'azote qui est un vasodilatateur. Ceci favoriserait la stimulation pariétale vasculaire de la production de substances vasoconstrictrices comme le thromboxane A2 et l'angiotensine 2 et serait à l'origine de l'athérosclérose ; qui est impliquée dans de nombreuses maladies cardiovasculaires. Contrairement à d'autres facteurs de risque cardiovasculaires ayant un impact pronostique clair

d'évolution vers des événements ischémiques ou hémorragiques, la présence d'anémie a été associée aux deux types de risques par des mécanismes indépendants ou dépendants de la comorbidité (18).

Dans notre étude, 37% des patients avaient une hyperleucocytose avec une valeur moyenne de leucocytes égale à $13,54 \pm 3,57$ G/L. Ces derniers étaient moins âgés (61,54 ans en cas d'hyperleucocytose *vs* 65,62 ans en absence d'hyperleucocytose), avec une fréquence plus élevée de diabétiques (57 % contre 49% en absence d'hyperleucocytose). L'hyperleucocytose était plus fréquente en cas de surpoids et d'antécédents familiaux.

En analyse univariée, aucune différence de ces facteurs n'a été retrouvée comme significative.

L'étude de Barron *et al.*, a rapporté que les patients plus âgés ainsi que les hypertendus avaient un nombre de leucocytes plus faible. Alors que les patients diabétiques ou pas avaient des valeurs de leucocytes quasi-égales. Les patients fumeurs, ayant des antécédents d'infarctus ou ayant été traités par l'aspirine ou les statines avaient des valeurs de leucocytes plus élevées (19).

Dans notre population étudiée, 4% de nos patients avaient une thrombopénie avec une moyenne de $133,25 \pm 10$ G/L. Les facteurs de risque de l'IDM significativement différents entre les patients avec et sans cette anomalie étaient l'âge inférieur à 65 ans et les antécédents familiaux avec respectivement $p=0,006$ et $p=0,031$.

Dans une étude coréenne ayant inclus 13085 patients admis pour infarctus aigu du myocarde, 7,29 % avaient une thrombopénie avec une valeur moyenne de plaquettes de $122,4 \pm 25,8$ G/L (20).

Les événements cardiovasculaires et le décès

Dans notre étude, les événements cardiovasculaires étaient apparus chez 26% des patients et exclusivement chez ceux avec anomalies de l'hémogramme.

Ce pourcentage était beaucoup plus important (52,3%) dans l'étude menée au Mali (21).

L'OAP était la complication la plus fréquente aussi bien dans notre étude (33,3%) que dans celle menée au centre hospitalier de Vichy (18,7%) suivi de la fibrillation auriculaire (6 %) (11).

Dans la présente étude, 9% des patients étaient décédés et souffraient tous d'anomalies de l'hémogramme. En revanche, aucune anomalie n'a été significativement associée au décès aussi bien en analyse univariée que multivariée.

Dans l'étude menée au centre hospitalier de Vichy, la mortalité hospitalière était de 4% (11). Ce pourcentage était légèrement plus élevé au centre hospitalier du Mali (7%) (21).

Association de la survenue d'événements cardiovasculaires et de décès avec les anomalies de l'hémogramme

Avec l'anémie

Dans notre étude, 39% (16/41) des anémiques ont mani-

festé des complications (Tableau 2). L'anémie était significativement associée à la survenue d'événements cardiovasculaires avec $p=0,02$ en analyse univariée et $p=0,002$ en analyse multivariée.

Douze pour cent des anémiques étaient décédés mais sans que l'anémie ne soit significativement associée à la mortalité intra-hospitalière.

Plusieurs raisons biologiques et cliniques pourraient expliquer le mauvais pronostic observé chez les anémiques atteints de SCA.

En effet, d'une part, l'anémie peut aggraver l'ischémie en diminuant l'apport d'oxygène au myocarde. Pour maintenir un flux systémique adéquat d'oxygène, le débit cardiaque augmente entraînant à son tour une élévation de la demande myocardique en oxygène. Tous ces facteurs conduisent à un état ischémique et donc à un pronostic défavorable chez les anémiques ayant un SCA. D'autre part, du point de vue thérapeutique, les patients souffrant d'anémie sont souvent sous-prescrits en anti-agrégants plaquettaires en raison du risque de saignement chez cette population.

En outre, la fragilité intrinsèque des patients anémiques peut limiter un traitement médical interventionnel agressif en raison d'un risque accru d'hémorragie, et pourrait indépendamment contribuer à une pire issue (22).

Une autre explication possible du pronostic péjoratif serait celle de Solomon et al, qui ont constaté une diminution des cellules progénitrices endothéliales circulantes dont la fonction est altérée, chez les patients atteints de SCA anémiques à l'admission par rapport aux non-anémiques. L'altération de la fonction de ces cellules pourrait engendrer une capacité moindre de cicatrisation vasculaire (23).

Avec l'hyperleucocytose

Dans notre étude, 41% (15/37) des patients ayant une hyperleucocytose ont développé des complications (Tableau 2) et 9% étaient décédés au cours de l'hospitalisation. L'analyse multivariée a révélé que l'hyperleucocytose était significativement associée à la survenue d'événements comme l'OAP, l'insuffisance ventriculaire gauche, le choc cardiogénique avec $p=0,002$. En revanche, sa corrélation avec le décès au cours de l'hospitalisation n'était pas significative.

Nos résultats allaient dans le même sens que le travail de Huczek *et al.*, qui n'a pas rapporté de corrélation entre numération leucocytaire et survenue de décès à 6 mois (24). Divers mécanismes pourraient expliquer l'état prothrombotique causé par un nombre élevé de globules blancs : la modulation de l'activité plaquettaire ; la formation de facteurs tissulaires prothrombotiques ; la lésion endothéliale directe ; l'activation de la voie extrinsèque (25).

Des études plus anciennes ont montré que le processus inflammatoire pouvait persister jusqu'à 6 mois, et se maintenir longtemps même après la résolution de l'évé-

nement clinique aigu. Cette inflammation continue contribuait à l'apparition d'événements ischémiques ultérieurs (26).

Avec les anomalies des plaquettes

Dans notre étude, parmi les 4% de patients ayant une thrombopénie, aucun n'a manifesté de complications ou de décès.

Parmi les 2% ayant une hyperplaquettose, 1 seul a manifesté des complications sans décès.

Babes *et al.*, ont conclu que le nombre de plaquettes en lui-même n'était pas prédictif de pronostic défavorable. D'autres paramètres hématologiques et de la coagulation comme le temps de quick et le volume plaquettaire moyen, permettaient de prédire les complications et la mortalité chez les patients avec un SCA (27).

CONCLUSION

Notre travail, mené sur une centaine de patients admis au service de cardiologie de l'hôpital Habib Thameur pour IDM, a souligné l'importance de l'hémogramme chez cette population.

Cette étude a permis de dégager les points suivants :

Le profil épidémiologique des patients englobant l'âge, le sexe, les comorbidités, les facteurs de risque était un facteur déterminant du devenir des patients après SCA car certains de ces paramètres étaient plus responsables que d'autres du pronostic péjoratif.

De plus, la présence d'anomalies de l'hémogramme pouvait être aggravée par certains de ces facteurs.

L'anémie était un élément indépendant de mauvais pronostic en termes de complications, mais sans être significativement influente sur les décès chez ces patients.

L'hyperleucocytose était un facteur de mauvais pronostic en termes de complications. Pour les décès, sa corrélation n'était pas statistiquement significative.

L'hyperplaquettose et la thrombopénie n'ont pas été significativement corrélées au mauvais pronostic.

La leucopénie n'a pas été étudiée vu qu'aucun patient de notre cohorte n'a eu cette anomalie.

Par ailleurs, l'analyse de nos résultats comparativement à ce qui a été rapporté dans la littérature a permis d'extraire un intérêt pour chaque anomalie étudiée et de mieux comprendre la causalité du pronostic péjoratif chez les patients ayant ces troubles hématologiques.

En conclusion, les paramètres de l'hémogramme, rapidement disponibles grâce aux automates d'hématologie cellulaire et avec des prix abordables, devront faire partie intégrante des éléments de surveillance intra-hospitalière et de prédiction de l'évolution de l'état des patients. Ces paramètres, rajoutent des informations indépendantes et supplémentaires aux signes cliniques et para-cliniques, permettant, d'identifier les sujets les plus à risque afin de leur assurer une surveillance étroite et un traitement adapté.

En effet, ils peuvent être considérés comme des marqueurs à la fois diagnostiques (puisque'ils sont impliqués dans la physiopathologie de l'infarctus du myocarde) et pronostiques (puisque'ils sont corrélés aux résultats intra hospitaliers et même à long terme comme l'a montré la littérature). Il serait par ailleurs intéressant de s'approfondir sur d'autres paramètres de l'hémogramme et de la coagulation

qui n'étaient pas étudiés dans ce travail. Des paramètres comme le volume plaquettaire moyen, le taux de prothrombine, l'index leuco-plaquettaire et l'indice de distribution des globules rouges ont également été d'un grand intérêt dans le suivi des patients ayant eu des SCA selon certaines études.

REFERENCES

1. Organisation mondiale de la santé (En ligne)-. Maladies cardiovasculaires. (consulté le 17 mai 2017) Disponible : [https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cardio-vascular-diseases-\(cvds\)](https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/cardio-vascular-diseases-(cvds))
2. Saidi O, Ben Mansour N, O'Flaherty M, Capewell S, Critchley JA, Romdhane HB. Analyzing recent coronary heart disease mortality trends in Tunisia between 1997 and 2009. *PLoS One*. 2013; 8(5): e63202.
3. Members AT, Steg PG, James SK, Atar D, Badano LP, Lundqvist CB, *et al*. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST segment elevation: The Task Force on the management of ST segment elevation acute myocardial infarction of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2018; 39(2):119-77.
4. Jomaa W, El Mhamdi S, Ben Ali I, Azaiez MA, El Hraiech A, Ben Hamda K, *et al*. Prognostic value of hyperglycemia on admission in diabetic versus non-diabetic patients presenting with ST-elevation myocardial infarction in Tunisia. *Indian Heart J*. 2018; 70(6):772-776.
5. Buntaine AJ, Shah B, Lorin JD, Sedlis SP. Revascularization strategies in patients with diabetes mellitus and acute coronary syndrome. *Curr Cardiol Rep*. 2016;18(8):79-91.
6. Angeli F, Reboldi G, Poltronieri C, Lazzari L, Sordi M, Garofoli M, *et al*. Hyperglycemia in acute coronary syndromes: from mechanisms to prognostic implications. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 2015; 9(6):412-4 24.
7. Haute Autorité de Santé (HAS). Lecture Critique de L'hémogramme : Valeurs Seuils à Reconnaître Comme Probablement Pathologiques et Principales Variations non Pathologiques ; HAS: La Plaine Saint-Denis, French, 1997.
8. Ibanez B, James S, Agewall S, Antunes MJ, Bucciarelli-Ducci C, BuenoH, *et al*. 2017 ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2017;39(2):119-177.
9. Stauder R, Valent P, Theirl I. Anemia at older age: Etiologies, clinical implications, and management. *Blood*.2018;131(5):505-514.
10. Nanayakkara S, Marwick TH, Kaye DM. The ageing heart: The systemic and coronary circulation. *Heart*. 2018; 104(5):370-376.
11. Ntima G, Bepouka B, Tixier V, Ferrier N, Marcaggi X. Anémie chez les patients avec syndrome coronarien aigu au centre hospitalier de Vichy. *Ann Cardiol Angeiol*. 2018; 67(5):321-326.
12. Ralapanawa U, Kumarasiri PV, Jayawickreme KP, Kumarihamy P, Wijeratne Y, Ekanayake M, *et al*. Epidemiology and risk factors of patients with types of acute coronary syndrome presenting to a tertiary care hospital in Sri Lanka. *BMC Cardiovasc Disord*. 2019; 19(1): 229-237.
13. Yan XN, Jin JL, Zhang M, Hong LF, Guo YL, Wu NQ, *et al*. Differential leukocyte counts and cardiovascular mortality in very old patients with acute myocardial infarction: A Chinese cohort study. *BMC Cardiovasc Disord*. 2020; 20(1):465-476.
14. Mamas MA, Kwok CS, Kontopantelis E, Fryer AA, Buchan I, Bachmann MO, *et al*. Relationship between anemia and mortality outcomes in a national acute coronary syndrome cohort: insights from the UK myocardial ischemia national audit project registry. *J Am Heart Assoc*. 2016; 5(11): e003348.
15. Liu Y, Yang YM, Zhu J, Tan HQ, Liang Y, Li JD. Anaemia and prognosis in acute coronary syndromes: A systematic review and meta-analysis. *J Int Med Res*. 2012;40(1):43-55.
16. Organisation Mondiale de la Santé. Directive : supplémentation intermittente en fer et en acide folique chez les femmes menstruées. Genève : OMS;2012.
17. Deivita Y, Syafruddin S, AndiNilawati U, Aminuddin A, BurhanuddinB,Zahir Z. Overview of Anemia;riskfactors and solution offering. *GacSanit*. 2021 ;35:235-41.
18. Faggioni M, Baber U, Sartori S, Chandrasekhar J, Cohen DJ, Henry TD, *et al*. Influence of baseline anemia on dual antiplatelet therapy cessation and risk of adverse events after per cutaneous coronary intervention. *Circulation*.2019;12(4):e007133.
19. Barron HV, Cannon CP, Murphy SA, Braunwald E, Gibson CM. Association between white blood cell count, epicardial blood flow, myocardial perfusion, and clinical outcomes in the setting of acute myocardial infarction: a thrombolysis in myocardial infarction 10 substudy. *Circulation*.2000;102(19):2329-34.
20. Song PS, Ahn KT, Jeong JO, Jeon KH, Song YB, Gwon HC, *et al*. Association of baseline platelet count with all-cause mortality after acute myocardial infarction. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*. 2020;10(2):176-183.
21. Coulibaly S, Diall I, Mental, Diakité M, BaH, Diallo N, *et al*. Le syndrome coronarien aigu dans le service de cardiologie du CHU du point G: prévalence clinique, thérapeutique et évolution. *Health Sci Dis*. 2018 ; 19(3): 20-23.
22. Ducrocq G, Calvo G, González-Juanatey JR, Durand-Zaleski I, Avendano-Sola C, Puymirat E, *et al*. Restrictive vs liberal red blood cell transfusion strategies in patients with acute myocardial infarction and anemia: Rationale and design of the reality trial. *Clin Cardiol*. 2021 ; 44(2) : 143-150
23. Solomon A, Blum A, Peleg A, Lev EI, LeshemLev D, Hasin Y. Endothelial progenitor cells are suppressed in anemic patients with acute coronary syndrome. *Am J Med*. 2012 ;125(6):604-611.
24. Rezkalla SH, Kloner RA. No-reflow phenomenon. *Circulation*. 2002; 105(5): 656-662.
25. Alkhalfan F, Nafee T, Yee MK, Chi G, Kalayci A, Plotnikov A, *et al*. Relation of white blood cell count to bleeding and ischemic events in patients with acute coronary syndrome (from theATLASACS2-TIMI51Trial). *Am J Cardiol*. 2020; 125(5):661-669.
26. Ryabov VV, Gombozhapova AE ,Rogovskaya YV, Rebenkova MS, Alekseeva YV, Kzhyshkowska YG. Inflammation as a universal pathogenetic link between injury, repair and regeneration, in acute coronary syndrome. From experiment to clinic. *Kardiologiya*. 2019; 59(8):15-23.
27. Babes EE, Zaha DC, Tit DM, Nechifor AC, Bungau S, Andronic-Cioara FL, *et al*. Value of hematological and coagulation parameters as prognostic factors in acute coronary syndromes. *Diagnostics*. 2021; 11(5): 850-874.

A PROPOS D'UN CAS

Blue-green inclusions in leukocytes and Covid-19: a case report and review of literature

Les inclusions bleues-vertes des leucocytes et Covid-19: à propos d'un cas et revue de littérature

Ikbel Ghachem¹

Mohamed Yassine Kaabar²

Asma Bachali¹

¹ Department of hematology
Mohamed Taher Maamouri
Hospital. Faculty of Medicine
Tunis. El Manar University.
Nabeul, Tunisia

² Department of hematology
Mohamed Taher Maamouri
Hospital, Nabeul,
Tunisia. Faculty of Pharmacy
Monastir. Monastir University.

Submitted September 6th 2022
accepted January 23rd 2023

Corresponding Author:

Dr Ikbel Ghachem.

Department of hematology Mohamed
Taher Maamouri Hospital, Nabeul,
Tunisia

Courriel :

ikbel-ghachem@hotmail.com

Abstract

Blue-green cytoplasmic inclusions in neutrophils and/or monocytes are uncommon anomalies observed in peripheral blood smear which were described in few case reports in patients with acute liver injury, lactic acidosis and more recently, in cases of Covid-19. These inclusions are associated with a critical prognosis and death shortly time after identification. Herein, we report a case of blue-green cytoplasmic inclusions finding in neutrophils and monocytes cytoplasm's in a patient with Covid-19.

Keywords: Covid-19, inclusion Bodies, neutrophils, monocytes, coronavirus

Résumé

Les inclusions cytoplasmiques bleues-vertes des neutrophiles et/ou des monocytes sont des anomalies rares de frottis sanguin décrites chez les patients atteints d'une lésion hépatique aiguë, d'acidose lactique et récemment de Covid-19. La présence de ces inclusions est associée à un pronostic critique et péjoratif à court terme.

Nous rapportons un cas des inclusions cytoplasmiques bleues-vertes dans le cytoplasme des neutrophiles et des monocytes.

Mots clés : Covid-19, inclusions cytoplasmiques, neutrophiles, monocytes, coronavirus

INTRODUCTION

Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-Covid 2) was responsible of an increased mortality rates in the 21 century (1). Prognostic indicators are performed markers that can help in the therapeutic care of critically ill patients and were frequently described in many studies (2). Recently, reporting of blue-green cytoplasm inclusions named “crystal of death” in few series of case in the literature should be considered as a simple cytological marker to identify patients at greater risk of short-term mortality (3-7). Herein, we report a clinical case of covid-19 patient died after 24 hours of identification of blue green inclusions in the peripheral blood smear.

CLINICAL CASE

A 78 years old man with a history of diabetes and high blood pressure was hospitalized for a severe acute respiratory syndrome covid-19 in the intensive care unit

requiring a mechanic ventilation. Chest X-ray showed bilateral peripheral alveolar infiltrates. Laboratory tests showed an increased leucocytes number ($94 \times 10^3/\mu\text{L}$) with a predominance of polymorphonuclear cells ($92.4 \times 10^3/\mu\text{L}$), lymphopenia ($0.8 \times 10^3/\mu\text{L}$), aregenerative normochrome anemia (Hemoglobin = 5.6 g/dL), normal platelets number, and elevated D-Dimers (6961 ng/mL). Biochemical report showed an elevated lactate dehydrogenase (LDH=877 U/L), renal failure (urea = 76.4 mmol/L, creatinine = 277 $\mu\text{mol/L}$), CRP=90.97 mg/L, hyperkalemia=7.62 mmol/L, hypernatremia =147 mmol/L, lactate =1 mmol/L) but with a normal hepatic function (Aspartate transaminase = 38.2 UI/L, Alanine transaminase =24.9 UI/L).

Peripheral blood smear examination revealed multiple blue-green inclusions in 4% of neutrophils and 1% of monocytes (Figure 1).

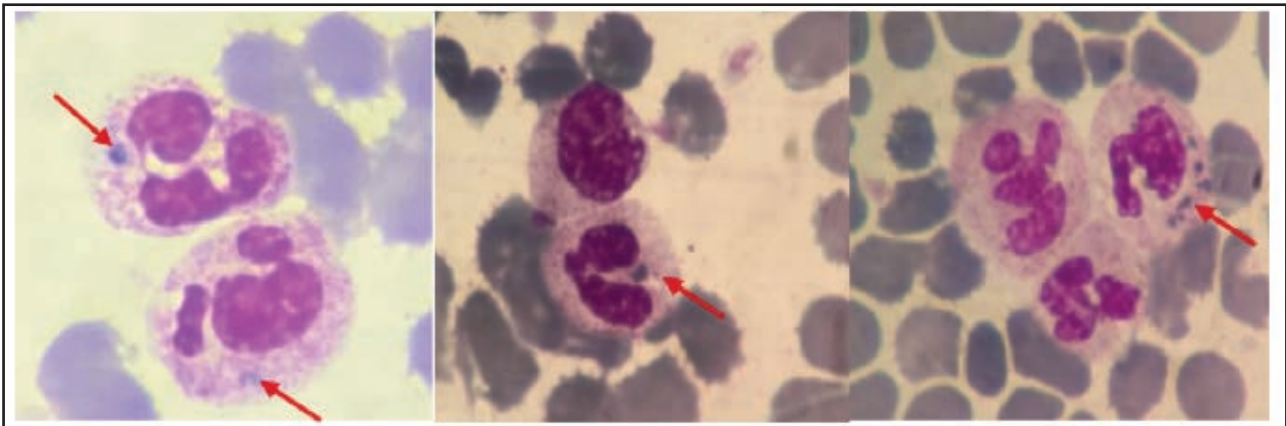


Figure 1: Blue-green inclusions in neutrophils cytoplasm cells (red arrows).

The patient died after 48 hours of this microscopic finding and 10 days after initial Covid-19 testing.

DISCUSSION

Most reports described this crystal inclusion as a critically anomaly in patients with tissue injury seen in liver failure and sepsis (3) and recently described in rare cases of Covid-19 patients (5-7). Three publications documenting 8 cases of prominently green inclusions in Covid-19 patients have been reported. These cases were frequently linked to elevated transaminase levels and lactic acidosis (table 1). Such blue-green inclusions called «crystals of death» were associated with a short-term mortality in 60% with a median of 3 days, range 1-599 days (4) and represent a prognostic factor for higher early mortality rate within 24–72 hours (6). The higher the transaminase levels, the greater the number of inclusions within neutrophils, and the more extensive the tissue damage becomes. The percentage of neutrophils inclu-

sions could be useful as a prognostic value in the patient follow-up (8). However, the clinical significance of this finding is still uncertain. In fact, prognosis is related to various factors like age, comorbidity, and severe illness. Green inclusions could be simply a transient morphologic anomaly (9).

In this case, blue-green inclusions were detected in peripheral blood smear of a critically ill coronavirus disease patient without any signs of hepatic necrosis with large inclusions in neutrophils and monocytes cytoplasm. These markers were also reported in a healthy patient affected with covid-19 (5). The pathogenesis of these inclusions is unclear and need more exploration of their etiology and clinical implications.

Peripheral blood smear is important since these anomalies are not detected in hematology analyzer.

Table 1 : Overview of literature for green-blue inclusions cases in covid-19 patients

Study (author,years)	Number of case report	Patient disease	Multisystem organ failure	Days from inclusion to death	Pourcentage of green inclusions
Dienstmann et al,2020	1	Covid-19	-	2 days	-
Cantu et al,2020	6	Severe	Lactic acidosis covid-19	1-10 days Liver necrosis	5% in neutrophils 1% in monocytes
Kritikou et al,2021	1	Severe covid-19	Lactic acidosis Liver necrosis	22 days	-

These inclusions are underdiagnosed, and their detection requires an extremely vigilance from the cytologist. Green inclusions were mostly described as birefractory, blue-green, cytoplasmic inclusion with variable size and circular shape with poorly defined edge (1). Regularly multiple, they are found in the cytoplasm of neutrophils and, less commonly in monocytes. Many hypotheses suggest that these crystals was rich of lipofuscin released from lysosomal degradation of necrotic hepatocytes phagocytized by neutrophils and monocytes (6). In addition, it should not be confused with Döhle bodies, Howell–Jolly pseudobodies, cryoglobulins, and May–Hegglin anomaly. It is essential that the cytologist immediately reports this finding to alert the clinician on the critical status of

the patient and aware of a possible tissue damage since almost 100% of COVID-19 patients died after the microscopic discovery of these inclusions (6). In the setting of COVID-19, this case reminds us that critically blue-green inclusions may aid to identify patients with higher risk of short term mortality. The information provided by the laboratory is crucial to establish prognosis. However, it's not systematically related to patients with acute liver failure or concurrent lactic acidosis (5). It is possible that tissue injury from other organs could also contribute to this finding. Therefore, further studies are required to ascertain the composition of these crystals and to develop a prognostic score, that encompass factors such as the percentage of inclusion and indicators of tissue damage.

REFERENCES

1. COVID-19 Excess Mortality Collaborators. Estimating excess mortality due to the COVID-19 pandemic: a systematic analysis of COVID-19-related mortality, 2020-21. *Lancet*. 2022 16; 399(10334):1513-1536. doi: 10.1016/S0140-6736(21)02796-3.

2. Muller M, Bulubas I, Vogel T. Les facteurs pronostiques dans la Covid-19 (Prognostic factors in Covid-19). *NPG Neurologie - Psychiatrie – Gériatrie*. 2021; 21(125):304–312.

3. Yang J, Gabali A. Green neutrophilic inclusions: current understanding and review of literature. *Curr. Opin. Hematol*. 2018; 25(1): 3–6.

4. Vicente-Steijn R, Tomé A, Maduell F, Xipell M, Castro P, Molina A, Merino A. Green inclusions in neutrophils: A critical finding that must be reported. *Int J Lab Hematol*. 2020; 42(3):e101-e104. doi: 10.1111/ijlh.13138.

5. Dienstmann G, Comar SR, Souza MLR, Ruaro G, Leite LAC. Critical blue-green inclusions in neutrophil and monocyte cytoplasm in a healthy patient affected by

COVID-19. *Hematol Transfus Cell Ther*. 2020 Oct-Dec;42(4):318-319. doi: 10.1016/j.htct.2020.06.008.

6. Cantu MD, Towne WS, Emmons FN, Mostyka M, Borczuk A, Salvatore SP, et al. Clinical significance of blue-green neutrophil and monocyte cytoplasmic inclusions in SARS-CoV-2 positive critically ill patients. *Br. J. Haematol*. 2020; 190(2): e89-e92.

7. Kritikou-Griva E, Chaliouri I, Tsagarakis NJ, Androutsos G, Chaniotaki S, Paterakis G. Green-blue intracytoplasmic inclusions in the bone marrow in severe COVID-19. *Blood Res*. 2021; 56(3): 126. doi: 10.5045/br.2021.2021077.

8. Dumas C, Durand B. Inclusions vertes dans les polynucléaires neutrophiles et les monocytes: à propos de deux cas. *Revue Francophone Des Laboratoires*. 2018; 504: 72–74.

9. Gorup T, Cohen AT, Sybenga AB, Rappaport ES. Significance of green granules in neutrophils and monocytes. *Proc (Bayl Univ Med Cent)*. 2017; 31(1):94-96. doi: 10.1080/08998280.2017.1391045.

PRATIQUE QUOTIDIENNE

Bone marrow cell cannibalism and phagocytosis

Cannibalisme cellulaire et phagocytose dans la moelle osseuse

Sarra Fekih Salem^{1,2}

Wijdene El Borgi^{1,3}

Fatma Ben Lakhal^{1,3}

Ons El Ghali^{1,3}

Emna Gouider^{1,3}

¹ Department of Biological Hematology, Aziza Othmana Hospital

² University of Monastir, University of Pharmacy of Monastir, Tunisia

³ University of Tunis El Manar, Faculty of Medicine of Tunis, Tunisia

Submitted May 30th 2023

accepted August 28th 2023

Corresponding author :

Dr Sarra Fekih Salem, MCA

Address :

Aziza Othmana Hospital, Place du Gouvernement, La Kasba Tunis 1008, Tunisia

Courriel :

sarrafekihsaleam@hotmail.fr

Clinical Case

A 66-year-old man with leucocytosis, anemia and thrombocytopenia in blood count cells. Peripheral blood smear revealed polymorphonuclear neutrophils (68%), monocytes (2%), eosinophils (2%), immature granulocytes (8%), lymphocytes (20%) and rare circulating erythroblasts.

A bone marrow aspirate smear was hyper-cellular and mainly infiltrated by cohesive cells grouped in clusters of 10 or more which had variable size with irregular nuclei, without nucleoli and reduced cytoplasm. A non-hematopoietic lineage was suspected. Rares tumor cells showed hemophagocytic activity of erythroblasts, lymphocytes and polymorphonuclear (Image 1). Cannibalism (tumor cell vs tumor cell phagocytic activity) (Image 1) and exceptional complex cannibalism (tumor cell was engulfing the other and this complex was further engulfed by another cell) was also observed in many malignant cells (Image 1, Panel 3: a,b). Bone marrow biopsy was indicated, whereas patient was lost to follow up.

Cannibalism is a rare phenomenon. It has been reported in giant cell carcinoma of lung (1) and malignant thymoma (2). On the other hand, complex cannibalism has infrequently been described in histology in oral squamous cell carcinoma (3).

Key words: cannibalism, bone marrow, extra hematopoietic cell

Mots clés : cannibalisme, moelle osseuse, cellules extra hématopoïétiques

Key message: Cytologists should be aware that cannibalism's phenomenon can be detected in bone marrow aspiration and confirmed by bone marrow biopsy. It is associated with a very bad prognosis.

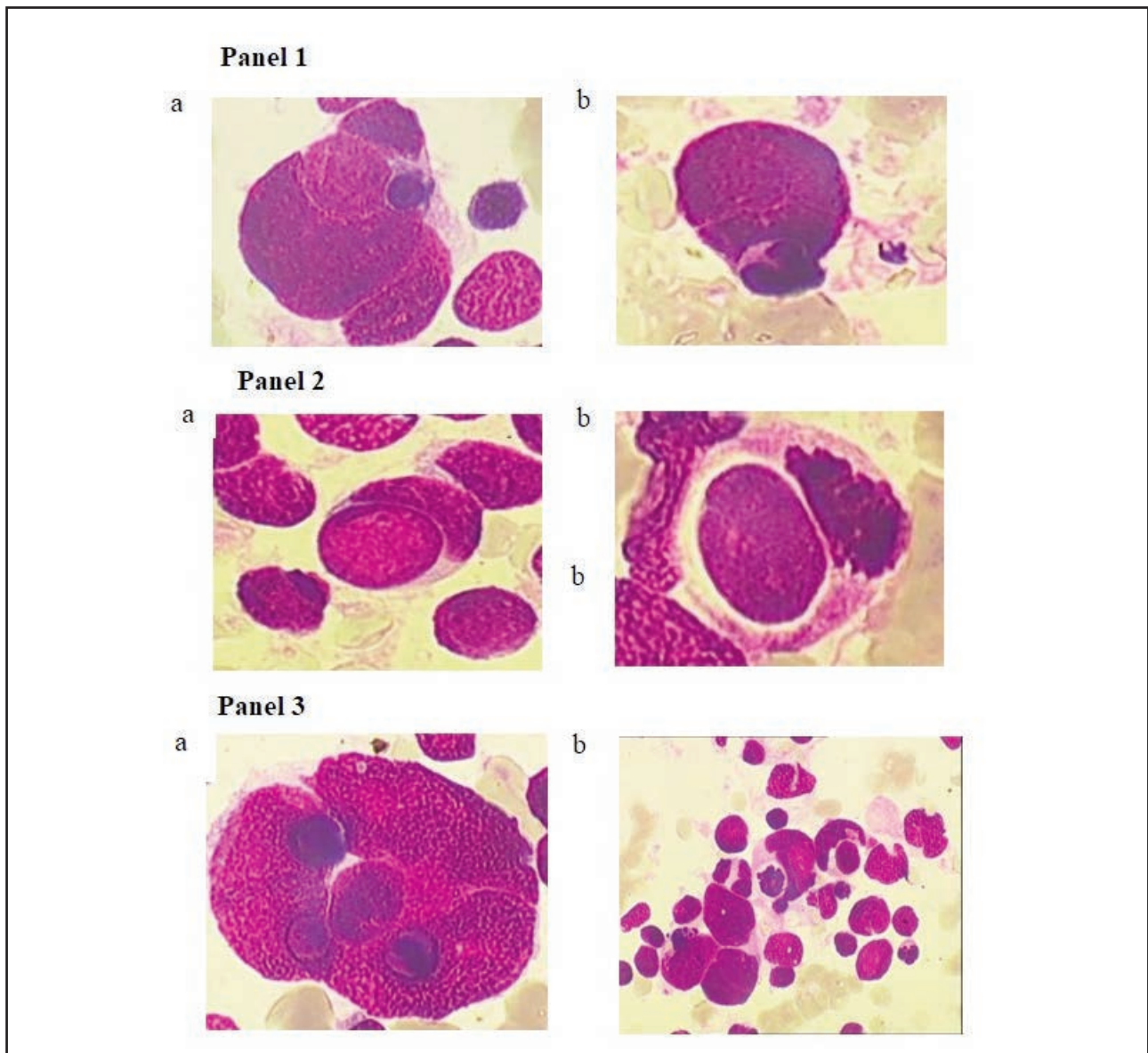


Image 1: Bone marrow aspirate. MGG stain 1,000 X. Panel 1: one erythroblast is internalized by a malignant cell (a), one polynuclear is internalized by a malignant cell (b). Panel 2: One malignant cell is completely internalized by another cell (a), internalized cell is altered (b). Panel 3: complex cannibalism (a, b).

REFERENCES

1. Craig ID, Desrosiers P, Lefcoe MS. Giant-cell carcinoma of the lung. A cytologic study. *Acta Cytol* 1983; 27:293–298
2. Frabte WJ, Bonfiglio TA, Kaminsky DB, Murphy WM. Diagnostic cytology seminar. *Acta Cytol*. 1980; 24:90–136

3. Sarode GS, Sarode SC, Karmarkar S. Complex cannibalism: An unusual finding in oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 2012; 48: e4–e6.

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'ya pas de conflit d'intérêts dans l'attribution des lecteurs.

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

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

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

La langue de soumission

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

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

Les types de manuscrits

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

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

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

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

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

Préparation des manuscrits

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

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

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

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

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

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

Les unités et les abréviations : Les données numériques doivent être déclarées en unités SI. L'utilisation des unités locales non SI est 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.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

