



TLM une profession en pleine évolution

→ P14 L'AFTLM
au sein
de l'EPBS



→ P21 La banque de tissus
de greffons
de Montpellier



→ P24 Le NGS, une aide
au diagnostic des maladies
métaboliques rares



Juin 2017
n° 08



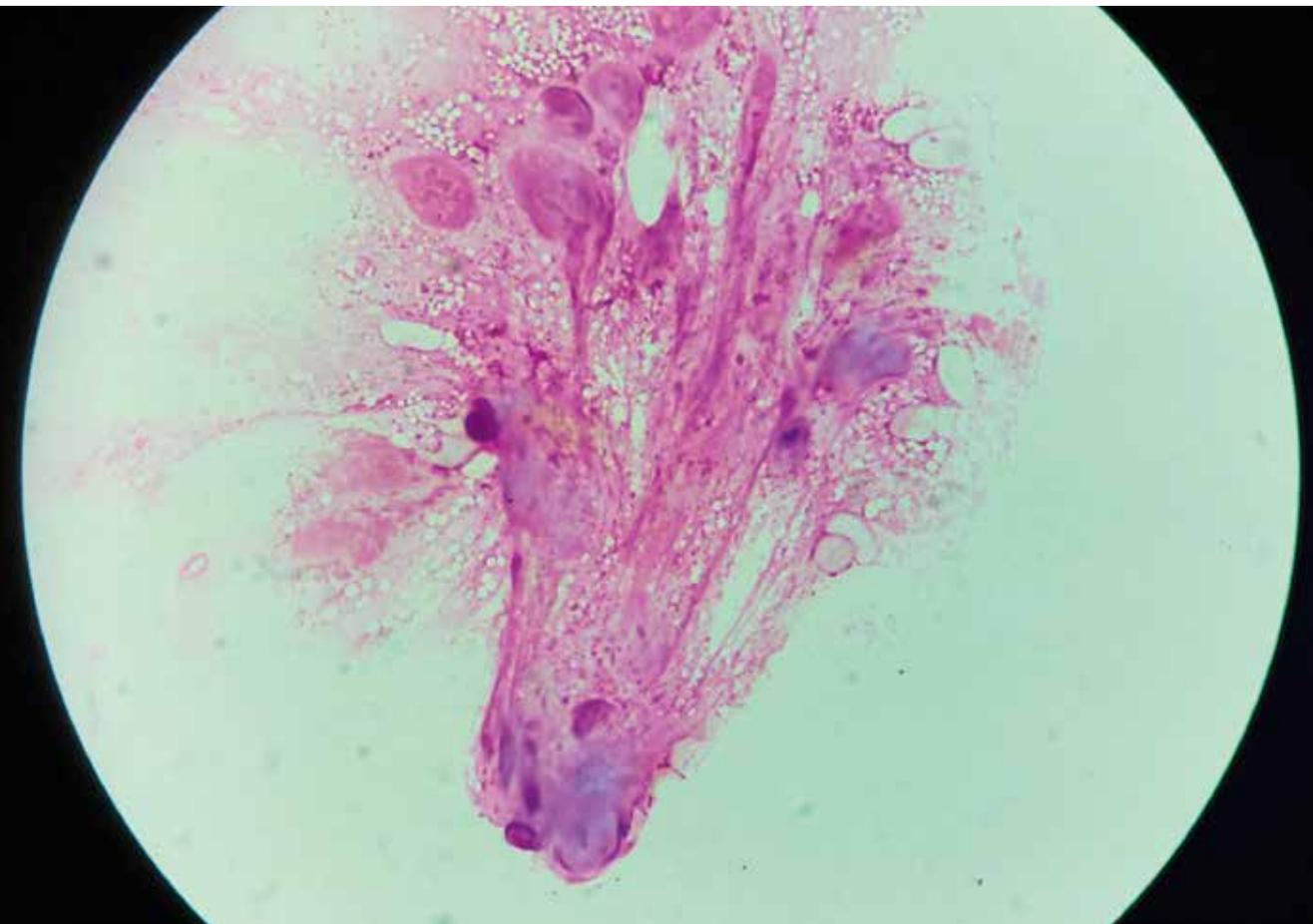
www.synlab-carrieres.fr



REJOIGNEZ NOS ÉQUIPES FRANCE

Participez à des projets innovants
au sein d'un réseau dynamique,
devenu leader en Europe.

Réseau **SYNLAB** 



Edito



Cher(e)s collègues,

Que vous receviez pour la première fois ce numéro de Techlabo.com, ou que vous soyez un lecteur habitué et assidu de la revue professionnelle des techniciens de laboratoire médical, il me semble primordial de vous rappeler l'importance de cette édition papier.

Non ! Ce n'est pas une feuille de chou gratuite que l'on peut jeter négligemment.

Il y a en coulisse des bénévoles de l'Association Française des Techniciens de Laboratoire Médical (AFTLM) qui déploient une énergie folle pour rendre possible cette parution.

Il y a des professionnels qui prennent de leur temps pour vous expliquer leur travail, leur recherche.

Il y a des représentants d'instances (Conseil National Professionnel des Techniciens de Laboratoire Médical, Haut Conseil des Professions Paramédicales...) qui présentent leurs ambitions, leurs projets, leurs réalisations pour la Profession.

Une volonté partagée par TOUS de rendre encore plus visible un métier méconnu, peu valorisé mais tellement essentiel au fonctionnement des laboratoires de biologie médicale.

Des femmes et des hommes indispensables en terme d'amélioration de la qualité, en terme d'innovation, de transmission des savoirs et de relation avec les patients.

Philippe Birac faisait partie de ces ambitieux. Technicien de laboratoire médical devenu cadre de santé en laboratoire privé pendant 20 ans dans les Pyrénées-Orientales, puis responsable informatique à l'association FCBM (Formation Continue en Biologie et Médecine), il avait toujours ancré en lui ce désir de reconnaissance de notre profession. Il restera pour nous un exemple d'altruisme.

Vous trouverez en page centrale de la revue, le programme de notre 14^{ème} journée professionnelle qui se déroulera à Paris au mois de novembre prochain.

Soyons nombreux autour de thèmes traitant du pré-analytique, de la qualité en bactériologie, de la recherche... Nous comptons sur vous pour que cette journée soit une réussite.

L'AFTLM pour vous, avec vous, pour la Profession.

Pierre DUCELLIER,
Président de l'AFTLM

Sommaire n°08 Juin 2017

Activités.com	P04
Infos.com	
Concours photo 2017	P06
Formation.com	
Deuxième session	P07
La XIII ^e Journée Professionnelle.....	P08
Mission.com	
Immersion d'un IDE au laboratoire de biologie médicale	P09
Focus.com	
Le Développement Professionnel Continu (DPC) : Pour qui ? Pourquoi ? Comment ?	P10
CNPTLM.com	
Le Conseil National Professionnel des Techniciens de Laboratoire Médical.....	P12
Europe.com	
L'AFTLM au sein de l'EPBS.....	P14
Technique.com	
La banque de tissus de greffons de Montpellier.....	P21
Le NGS, une aide au diagnostic des maladies métaboliques rares	P24
Avenir.com	
Biologie médicale en milieu rural : un secteur en pleine mutation	P32

Techlabo.com

Directeur de la publication

Pierre Ducellier

Rédacteur en chef

Gilles Le Maillot

Comité de rédaction

Karine Bervin Honoré,

Suzy Canivez,

Claire Ferlet,

Florence Loiseau,

Monique Pérennec,

Evelyne Psaltopoulos.

Secrétaires de rédaction

Edwige Caroff,

Sophie Grenier.

Mise en page et impression

Atelier Graphique - Limoges

05 55 50 68 22

Crédits photographiques

Séline Akdemir, Francine Angliviel,

Valentin Cathou, Florian Tafforeau

et les TLM du service d'anatomie

pathologique de l'hôpital de Lagny

Dépôt légal : juin 2017

Imprimé à 6400 ex



Conformément à l'article L. 122-4 du Code de la propriété intellectuelle française, il est interdit de reproduire, copier, modifier, transmettre, diffuser de toute manière que ce soit, même partiellement, sur tout type de support, tout élément de cette revue : textes, logos, images, sans l'autorisation explicite et préalable de l'AFTLM et de son auteur.



Organisationnelle

BNE (Bureau National Exécutif)
Réunion tous les mois sauf en août pour mener à bien les projets en cours...

1 assemblée générale annuelle
(bilans annuels 2016 du président, de la trésorière et de la secrétaire, projets 2017...)

1 assemblée générale extraordinaire
(modification des statuts de l'association et de son règlement intérieur)

20 et 21 janvier

CA (Conseil d'Administration)

21 Janvier

Séminaire de travail

21 Janvier...

Commission de Formation DPC

28 Mars, 1^{er} et 24 Avril, 16 Mai...

Conférence de rédaction du TechLabo

*25 Janvier, 22 Mars
20 Avril, 13 Juin*

Ministérielle

HCPP
(Haut Conseil des Professions Paramédicales)

22 Février, 15 Mars, 11 Juillet

CNPTLM
(Conseil National Professionnel des TLM)

Reprise des travaux sur la réingénierie des diplômes :
Référentiels d'activités, de compétences et de formation du TLM...

*4 Février, 1^{er} Avril, 16 Juin,
9 Septembre, 18 Novembre*

DGOS

(Direction Générale de l'Offre de Soins) :

Travail sur le référentiel d'évaluation externe de la qualité de formation, du HCERES (Haut Conseil de l'Evaluation de la Recherche et de l'Enseignement Supérieur) adapté aux formations paramédicales.

28 Mars, ...

Interprofessionnelle

UIPARM
(Union Inter Professionnelle des Associations de Rééducateurs et Médicotechniques) :
Réunions mensuelles

Professionnelle

Formations présentielles du samedi à l'ESTBA (Paris)

- > **Hématologie - Cytologie** en Mars
- > **Bactériologie** (Accréditation et les contrôles de qualités) en Septembre
- > **Biochimie - Toxicologie** (Chromatographie / Spectrométrie de masse) en Octobre
- > **Génétique moléculaire - Pharmacologie** (NGS) en Décembre

XIV^e Journée Professionnelle (JP) sur «TLM : Le risque maîtrisé »
17 Novembre au CNAM, à Paris

Congrès européen de l'EPBS (European association for Professions in Biomedical Science) sur « *L'apport du TLM et sa valeur ajoutée dans le système de santé* »
12 Octobre à Salzbourg (Autriche)

IX^e journée de formation de L'AMTAB (Association Martiniquaise des Techniciens d'Analyses Biologiques): « *Les pathologies cardiovasculaires* »
25 au 26 Novembre à la Martinique

Salons

JIB (Journées Internationales de Biologie)

27 au 29 Septembre (Bordeaux)

Salon de l'Etudiant

Communication



Publication de **TechLabo N°8**

Juin



Concours photo

« L'art au laboratoire »



www.aftlm.fr



communication@aftlm.fr



Facebook

Concours photo 2017

Summary

Photo contest: Art in the laboratory. The participants had until July 31st to send us their photos. The winners will be known on November 17th during our next professional day in Paris.

Du 1^{er} juin au 31 juillet, l'AFTLM organise son troisième concours photo, ouvert à tous les techniciens de laboratoire médical.

Cette année, le thème choisi est « **L'art au laboratoire** ». Outre la qualité technique et esthétique des photos, le jury évaluera la nouveauté et l'originalité du choix des sujets.

Les trois meilleures photographies seront primées.

Le palmarès sera dévoilé lors de la Journée Professionnelle de l'AFTLM, le vendredi 17 novembre à Paris.

Vous pouvez envoyer vos fichiers photo jusqu'au 31 juillet 2017 à l'adresse communication@aftlm.fr.

Règlement complet sur le site « aftlm.fr ».

Vous découvrirez dans ce numéro, quelques photographies du concours 2016 :

microscope d'hier et d'aujourd'hui



microtome d'hier et d'aujourd'hui



Deuxième session



Summary

AFTLM organized its second training assignment in ESTBA on the theme of hematology and cytology. Three speakers were, Christophe Marzac, biologist at IGR, Gilles Pirotte and Ingrid Contassot, laboratory technicians, transmited their knowledge and the passion of their profession (Next morning trainings are planned at the end of the year. Informations will be soon available on the association's website or on Facebook).

Le samedi 4 mars 2017, l'AFTLM a organisé sa deuxième session de formation dans les locaux de l'ESTBA (Ecole Supérieure des Techniques de Biologie Appliquée), sur le thème de « L'hématologie-cytologie ». Les trois intervenants, Christophe Marzac, biologiste médical à l'Institut Gustave Roussy (IGR), Gilles Pirotte et Ingrid Contassot, techniciens de laboratoire médical, ont su transmettre leur savoir et la passion de leur métier. Les prochaines matinées de formation sont prévues en fin d'année 2017. L'information sera prochainement accessible sur le site de l'association (aftlm.fr) ou bien sur sa page Facebook.

Gilles PIROTTE

TLM, Hôpital Paul-Brousse, Villejuif, APHP
Contact : gilles.pirote@aphp.fr

Situation inhabituelle pour moi en ce samedi matin, au début du mois de mars, dans ce quartier de la capitale. Je suis entouré d'étudiants qui attendent l'ouverture de leur école. Mais cette fois je ne suis plus dans le rôle de l'un d'eux mais celui qui va transmettre le savoir.

L'un des organisateurs de la demi-journée de l'AFTLM nous guide jusque dans l'amphi où tout le monde prend place. Même si l'ambiance est « bon enfant », mon stress monte d'un cran. Il faut rester clair, ne pas partir dans de grandes tirades et présenter l'ADVIA 2120, de la société Siemens, qui fait mon quotidien depuis de nombreuses années, devant les étudiants, mais aussi devant des collègues que je ne connais pas. Je me lance et tout devient fluide. Je retrouve mes marques, je sens le public attentif et bienveillant.

Mais tout cela passe bien trop vite. Il faut laisser la place à une technicienne de laboratoire qui va nous parler de son expérience en pédiatrie sur le même automate et m'ouvrir ainsi à d'autres visions et perspectives du métier, qui est tellement vaste. Enfin, en complément, un biologiste nous décrira l'apport de la technologie ADVIA au niveau du diagnostic des patients. L'expérience est enrichissante et je ne regrette pas ce moment d'échange trop bref.

Cette matinée fut un véritable moment d'échange et de comparaison de nos expériences personnelles. Je recommande vraiment à tous les TLM ces formations, dialogue franc, sans compromission et loin de toutes les réunions commerciales.

Nous donnons toujours le meilleur de nous-mêmes quand nous sommes réellement impliqués.

Ingrid CONTASSOT

TLM, Hôpital Robert-Debré, Paris, APHP
Contact : ingrid.contassot@aphp.fr

Technicienne de laboratoire médical en hématologie biologique depuis 11 ans, j'exerce au Centre Hospitalo-Universitaire de Robert-Debré situé dans le 19ème arrondissement de Paris. Je suis toujours prête à échanger autour de mon métier et pouvoir participer à une formation en tant qu'intervenante est une manière interactive de le faire. C'est pourquoi j'ai accepté de participer à la demi-journée de formation proposée par l'AFTLM qui se déroulait à l'ESTBA en mars dernier. Cette formation s'adressait à des professionnels en activité, mais aussi à des étudiants techniciens de laboratoire médical et à leurs formateurs.

Rassembler et organiser ses acquis afin de pouvoir les retransmettre n'est pas forcément chose facile, mais c'est une expérience très enrichissante personnellement et professionnellement. On souhaite véhiculer l'envie d'être technicien de laboratoire médical, un métier quelque peu menacé par toutes les avancées technologiques que nous connaissons, mais un métier que nous devons toujours faire évoluer !

De plus, être intervenante lors de cette matinée de formation m'a permis d'approfondir mes connaissances sur une technologie différente de celle que j'utilise quotidiennement. Les échanges « opposant » la cytologie microscopique et la cytologie numérisée ont été pour moi très constructifs et cela montre un certain avenir pour cette dernière qu'il nous faudra apprivoiser dans le futur.

Je remercie vivement l'AFTLM de m'avoir sollicitée et fait confiance pour cette intervention.

Dernière minute ! Une formation sur le thème des « Contrôles de qualité en bactériologie » aura lieu le samedi 16 septembre 2017 de 9h à 13h à l'ESTBA, Paris 20°. Renseignements et inscriptions sur www.aftlm.fr

La XIII^e Journée Professionnelle

Summary

The AFTLM last professional day was on November 18th, 2016, in Montpellier. Sylvie speaks about her first experience with us.

Le 18 novembre 2016, la journée professionnelle de l'AFTLM s'est délocalisée. Nous avons été accueillis par l'équipe de Montpellier, qui a été d'une organisation sans faille.

Les techniciens de laboratoire médical de la France entière se sont déplacés et les TLM du Sud Est se sont largement mobilisés. Nous étions au total plus de 200 dans la salle de conférence.

Sur le thème : **« TLM, de nouvelles missions...pas impossibles »**, les sujets étaient très divers : des chargés de clientèle aux banques de tissus, en passant par la répression des fraudes, tous les intervenants ont captivé l'assistance.

Voici le témoignage de Sylvie, qui assistait pour la première fois à notre journée professionnelle.

Sylvie DEFIVE

TLM, CHU Robert-Debré, APHP, Paris

« Technicienne de laboratoire dans le service de microbiologie du CHU Robert-Debré, à Paris, je me suis intéressée à l'AFTLM il y a environ deux ans, lors du sponsoring de mes collègues qui ont participé à la course de la Parisienne.



Depuis, je suis les différentes activités de cette association et je suis adhérente. Je consulte régulièrement leur site internet et leur page Facebook, afin d'y glaner des informations sur la profession.

Lorsque la cadre du service nous a proposé de nous inscrire à la XIII^e journée professionnelle de l'AFTLM à Montpellier, j'ai tout de suite souhaité y assister.

Lors de ce congrès, les différentes interventions ont suscité pour moi un vif intérêt. Des TLM s'adressant à des TLM, c'est forcément très concret.

De cette journée, j'ai particulièrement apprécié les sujets concernant l'évolution de notre métier, l'automatisation et surtout la perspective de nouvelles spécialités. J'ai pu découvrir des facettes du métier qui m'étaient alors totalement inconnues.

Cette journée m'a aussi permis de rencontrer d'autres techniciens de laboratoire médical du secteur public et privé, venant de toute la France et de toutes disciplines. J'ai même eu le plaisir d'y retrouver d'anciennes collègues. Ce congrès a été l'occasion d'échanges et de partages, beaucoup plus que je ne l'avais imaginé.

De retour au laboratoire, j'ai fait une présentation à mes collègues sur certains sujets abordés lors de cette journée. Cela m'a permis de transmettre aux techniciens de laboratoire les informations reçues, et de répondre aux exigences de l'accréditation. Je me suis aidée des supports de la journée disponibles sur le site internet de l'association, pour réaliser un Power Point et présenter ce retour d'expérience à l'ensemble du laboratoire.»



Immersion d'un IDE au laboratoire de biologie médicale

Guillen ARISTIZABAL

Ingénieur d'étude / Infirmier de recherche Inserm, CESP, Hôpital Paul-Brousse, Villejuif, APHP
Contact : guillen.aristizabal@aphp.fr

Summary

Feedback of a nurse in immersion in a medical analysis laboratory.

Ma mission actuelle consiste en l'organisation et la réalisation du recueil de données d'une étude épidémiologique Inserm sur les effets des horaires de travail sur le sommeil, le rythme circadien, et certains marqueurs biologiques immunitaires, inflammatoires et génétiques, auprès d'aides-soignantes et infirmières volontaires de l'hôpital Paul-Brousse.



Dans ce cadre professionnel, qui pourrait être considéré comme une pratique avancée infirmière, je suis amené à réaliser des prélèvements sanguins sur les sujets d'étude, qui sont analysés dans le laboratoire hospitalier partenaire de l'étude : le laboratoire de Biochimie de l'hôpital Paul-Brousse dirigé par le professeur A. Lemoine.

Tout d'abord, il m'a fallu organiser, avec la collaboration du cadre de santé de ce laboratoire, Florence Loiseau, la traçabilité anonymisée, le circuit des prélèvements sanguins et celui des résultats d'analyse, ainsi que l'information du personnel du laboratoire, techniciens et biologistes.

Très accueillant envers cette étude de recherche en santé publique et santé au travail, le personnel réalise une partie des analyses nécessaires, après m'avoir formé à la centrifugation et à la réalisation d'aliqots de sérum et de sang total. Une partie des prélèvements sanguins que je congèle par la suite à -80°C est en effet transférée et sera analysée ultérieurement.

En tant qu'infirmier, il est vraiment très intéressant de pratiquer ces actes techniques de laboratoire. J'ai eu l'impression de passer de l'autre côté du guichet de dépôt des prélèvements sanguins.

L'organisation complexe du service, le travail méticuleux des techniciens de laboratoire médical et des biologistes médicaux sont une découverte très intéressante vue de l'intérieur, autant sous l'aspect technique et scientifique, que sous l'aspect organisationnel et sécuritaire du travail, mes deux spécialités.



Le Développement Professionnel Continu (DPC) : Pour qui ? Pourquoi ? Comment ?

Didier PRUDENT

Cadre de santé, Hôpital Kremlin-Bicêtre, AP-HP
Contact : didier.prudent@aphp.fr

Le DPC, sujet encore mal connu par les techniciens de laboratoire médical, est pourtant une obligation réglementaire depuis 2013. Didier Prudent, cadre de santé à l'Hôpital Bicêtre, fait le point sur la question.

Summary

Didier Prudent gives an update on continuing training and answers the most frequent questions you ask.

Je suis technicien(ne) de laboratoire médical, suis-je concerné(e) par le Développement Professionnel Continu (DPC) ?

Le DPC est une **obligation** individuelle pour tous les professionnels de santé, tous modes d'exercice confondus.

Tous les trois ans, au moins une «action» DPC doit être réalisée. Cette action doit comprendre une **action de formation cognitive ET une action d'évaluation ou d'analyse des pratiques**.

Il est à signaler que ces deux actions peuvent être réalisées séparément ou ne pas faire partie du même programme.

Qu'est ce que le DPC va m'apporter ?

Le DPC permet grâce à ses «actions» d'entreprendre une démarche d'apprentissage continu et de consolider ses connaissances et ses compétences.

Le DPC a pour objectif l'amélioration de la qualité et la sécurité des soins, la prise en compte des priorités de santé publique et la maîtrise des dépenses de santé. Le terme de développement professionnel continu reconnaît l'ensemble des compétences pro-

fessionnelles nécessaires au parcours de soins mais aussi le contexte pluridisciplinaire de celui-ci.

J'exerce dans un laboratoire de biologie médicale privé ou dans un centre de santé conventionné, comment dois-je faire pour remplir mon obligation de DPC ?

Rapprochez-vous de votre employeur dans un premier temps.

Vous devrez par la suite créer un compte personnel sur le site de l'Agence Nationale du Développement Personnel Continu (ANDPC), rechercher un programme DPC et vous inscrire à une session du programme DPC que vous aurez choisi.

J'exerce dans un laboratoire de biologie médicale hospitalier, comment dois-je faire pour remplir mon obligation de DPC ?

Consultez les programmes de DPC disponibles sur le site Internet de l'ANDPC.

Il est possible que votre établissement vous propose de participer à un programme de DPC collectif ou individuel, en fonction du plan de formation qui aura été réalisé à partir des besoins de votre service ou de votre établissement.

Lorsque vous participez activement à l'accréditation de votre laboratoire (par exemple : mise en place de contrôle, rédaction de procédures, etc...) cette activité peut être dans une certaine mesure prise en compte comme activité DPC.

Dans tous les cas, rapprochez-vous de votre encadrement ou de votre service de formation.



Quelle est la différence avec le Compte Personnel de Formation (CPF) ?

Le Compte Personnel de Formation (CPF), alimenté en heures, est utilisable par tout salarié, tout au long de sa vie active, pour suivre une formation qualifiante. Le CPF a remplacé le Droit Individuel à la Formation (DIF) mais les salariés ne perdent pas les heures acquises au titre du DIF et pourront les mobiliser jusqu'au 31 décembre 2020. Le CPF fait partie du Compte Personnel d'Activité (CPA).

Il peut aussi être réalisé pour le développement et/ou l'acquisition de nouvelles connaissances ou compétences mais à la différence du DPC, vous pouvez faire appel à lui pour :

- Une adaptation aux évolutions prévisibles des emplois et métiers,
- Une préparation aux examens et concours,
- Une action complémentaire à un congé pour bilan de compétences,
- Une action complémentaire à un congé pour Validation des Acquis de l'Expérience (VAE)
- Créer ou reprendre une entreprise.



Qui est autorisé à dispenser des programmes de DPC, pour que je puisse valider mon obligation de DPC ?

Les programmes de DPC sont dispensés par des organismes ou des associations ayant l'agrément « organisme DPC ».

Ils sont obligatoirement évalués par une commission scientifique indépendante représentant la profession et doivent être impérativement enregistrés par l'ANDPC.

Conformes à une orientation nationale ou régionale de DPC, ces programmes doivent comporter des méthodes et des modalités évaluées par la Haute Autorité de Santé (HAS).

Ma participation à un programme de DPC est-elle prise en charge ?

Votre participation à un programme de DPC peut être prise en charge par votre employeur, public ou privé.

Comment puis-je justifier de ma participation à un programme de DPC ?

Une attestation de participation au programme de DPC doit vous être remise en fin de programme par l'organisme DPC.

Cette attestation vous permet de justifier de votre participation à un programme et par conséquent à votre obligation en cas de contrôle. ■

Pour en savoir plus :

- **AFTLM** : Association Française des Techniciens de Laboratoire Médical [en ligne]. Mise à jour 20/07/2016. Disponible sur <http://antab.com>
- **Légifrance** : Le Service public de l'accès au droit [en ligne]. Mise à jour 18/04/2017. Disponible sur <https://legifrance.gouv.fr>
- **Décret n° 2016-942 du 8 juillet 2016 relatif à l'organisation du développement professionnel continu des professionnels de santé** : <https://www.legifrance.gouv.fr/eli/decret/2016/7/8/AFSH1608338D/jo/texte>
- **LOI n° 2016-41 du 26 janvier 2016 de modernisation de notre système de santé** : <https://www.legifrance.gouv.fr/eli/loi/2016/1/26/AFSX1418355L/jo/texte>
- **HAS** : Haute Autorité de la Santé. [en ligne]. Mise à jour 25/03/2016. Disponible sur <http://www.has-sante.fr>
- **Réglementation relative au dispositif de DPC** : <http://www.has-sante.fr/portail/jcms/c732957/fr/reglementation-relative-au-dispositif-de-dpc>
- **Agence DPC** : Agence Nationale du Développement Professionnel Continu [en ligne]. Mise à jour 14/04/2017. Disponible sur <https://www.agencedpc.fr>
- **Service-Public** [en ligne] : Fiche pratique relative au CPF <https://www.service-public.fr/particuliers/vosdroits/F10705>
- **Revue TechLabo.com** : La revue du technicien de laboratoire médical. Septembre 2016. N°7

Le Conseil National Professionnel des Techniciens de Laboratoire Médical

Myriam DELVIGNE

Présidente CNPTLM

Contact : my.delvigne@gmail.com

Summary

The CNPTLM was created on March 21st 2016. Myriam Delvigne, its president, explains her job and actions achieved during the year about basic training and the continuing vocational training.

Quelques nouvelles concernant le CNPTLM, représentant la profession auprès des instances :

Voilà un peu plus d'une année que le Conseil National Professionnel a été créé avec l'objectif initial de répondre à la demande du Décret n° 2016-942 du 8 juillet 2016 relatif à l'organisation du développement professionnel continu des professionnels de santé.

La loi de modernisation du système de santé comporte un volet (Titre III, chapitre 1) réformant le dispositif DPC (Développement Professionnel Continu).

Ce dispositif de formation continue obligatoire des

professionnels de santé est redéfini et réorganisé. L'objectif est le maintien et l'actualisation des connaissances et des compétences, ainsi que l'amélioration des pratiques.

Pour cela, chaque technicien a désormais l'obligation de justifier de son engagement dans une démarche de DPC comportant des actions de formation continue, d'analyse, d'évaluation et d'amélioration de ses pratiques et de gestion des risques. Cette justification se fait désormais sur une période de trois ans et non plus annuellement.



Afin de satisfaire aux obligations des professionnels, le CNPTLM a défini les orientations pour les techniciens de laboratoire médical pour les années 2016 - 2018 qui sont :

- **Orientation n°1** : qualité et sécurité en biologie médicale.
- **Orientation n°2** : analyse des non-conformités et mise en place d'actions correctives et préventives.
- **Orientation n°3** : technologies innovantes en laboratoire de biologie médicale
- **Orientation n°4** : gestion des risques et identité - vigilance.

L'ensemble des actions réalisées par les techniciens au titre de leur obligation de développement professionnel continu sera retracé dans un document dont le contenu et les modalités d'utilisation seront définis par le Conseil National Professionnel dès que le prochain décret sera promulgué.

En attendant ce décret et sa mise en application, et fort de l'expérience des manipulateurs en électroradiologie médicale, le CNPTLM a mis en place, en juin 2016, un comité d'harmonisation des formations initiales avec pour objectif de reprendre, par anticipation, les travaux sur la réingénierie des diplômes et de rechercher une cohérence d'enseignement entre les différentes formations : BTS, DUT, DETLM.

La réingénierie des diplômes paramédicaux avait pour ambition de répondre à de multiples enjeux :

- **Favoriser** la libre circulation des professionnels de santé dans l'Union européenne en améliorant la lisibilité des parcours de formation,
- **Créer des passerelles** entre les différentes formations, pour permettre la réorientation en cours de cursus, l'enrichissement des carrières ou le changement de métier,
- **Contribuer à la mutualisation** de certains enseignements communs aux professions médicales ou non et, ainsi, à l'émergence d'une culture commune, de modes de travail communs.

Parallèlement, elle devait s'accompagner d'une revalorisation statutaire pour les paramédicaux concernés.

Elle s'est arrêtée en 2012, alors que, le groupe de travail concernant les techniciens de laboratoire médical avait validé les référentiels métiers et de compétences ; il restait à décliner le référentiel de formations pour la reconnaissance d'un ou de plusieurs diplômes au grade de Licence avec 180 ECTS qui respecteraient les accords de Bologne.

Nous avons donc décidé de revisiter ces référentiels au regard des nouveaux métiers émergents, et de reprendre le référentiel de formation selon la méthode préconisée par la DGOS (Direction Générale de l'Offre de Soins).

Notre objectif est de pouvoir proposer à la DGOS le travail fourni par notre groupe (instituts de formation de Tours, d'Amiens et de Lyon, BTS, IUT, membres de l'AFTLM), à savoir l'écriture du référentiel de formation lorsque reprendront les travaux sur la réingénierie des diplômes des techniciens de laboratoire médical.

L'accréditation des laboratoires, la diminution démographique des biologistes médicaux et l'émergence de nouveaux métiers en lien avec la métrologie, l'informatique, la Qualité (responsable qualité, référents qualité, auditeurs internes), des responsabilités accrues sur les plateformes techniques, des ingénieurs... incitent à penser que, demain, le technicien travaillera de plus en plus par délégation, après habilitation, sur des technologies de pointe y compris informatiques, dans l'intérêt d'une prise en charge des patients plus rapide et plus performante.

Il est donc plus que nécessaire que :

- La formation initiale du technicien de laboratoire médical soit au plus près des compétences attendues dans nos laboratoires,
- Les professionnels d'aujourd'hui et de demain soient reconnus au grade de Licence comme d'autres paramédicaux le sont déjà.

Nous y travaillons ensemble. ■

L'AFTLM au sein de l'EPBS

José THARSIS

Cadre de santé, Hôpital Saint Antoine (Paris)
Contact : jose.tharsis@aphp.fr

En 2016, deux membres du bureau national de l'association, José Tharsis, chef de la délégation et Guillaume Ladrangé ont représenté l'AFTLM au congrès annuel de l'EPBS-European association for Professions of Biomedical Science.

Il s'est tenu à Athènes, en Grèce, les 7, 8 et 9 octobre 2016. Comme en 2015, la délégation française a été accompagnée par une étudiante de 2ème année en BTS analyses biologiques, Gabrielle Vincent de l'ENCPB (Ecole Nationale de Chimie Physique et Biologie de Paris).

José Tharsis, cadre de santé, à l'Hôpital Saint Antoine (Paris) et Gabrielle Vincent répondent à nos questions.

Summary

José Tharsis and Guillaume Ladrangé went to Athens in last October to represent AFTLM at annual EPBS meeting. They were accompanied by a student: Gabrielle Vincent. Representatives of different countries worked on the continuing professional development and students on creation of a virtual data exchange's library.

José and Gabrielle answer our questions concern this meeting.



AFTLM : José, pouvez-vous nous expliquer ce qu'est l'EPBS ?

José Tharsis : Le sigle EPBS signifie European association for Professions in Biomedical Science. Il s'agit d'une association européenne qui regroupe une grande partie des associations nationales de techniciens de laboratoire médical de 23 pays d'Europe.

Une seule association représentative, par pays, siège à l'EPBS. L'AFTLM représente les Techniciens de Laboratoire Médical (TLM) français. Les membres du bureau sont originaires des 23 pays européens représentés. L'EPBS est

présidée par la représentante de l'Irlande Marie Culliton, à ses côtés des membres originaires de plusieurs Etats membres: Fernando Mendes, le chef de la délégation portugaise est secrétaire général, Anneke Geurts-Moespot, trésorière représente la Hollande, Sonia Daadoucha Perroud la Suisse et Martina Jürs le Danemark pour ne citer qu'eux.

L'EPBS se réunit une fois par an dans un des pays membres sur présentation de candidature et élection lors du congrès de l'année précédente. Pour assurer son fonctionnement, chaque association nationale cotise à l'EPBS à hauteur du nombre de ses adhérents.

Un bureau restreint travaille toute l'année en relation avec les associations nationales et se réunit une fois dans l'année au siège de l'EPBS à Bruxelles. Il est chargé de proposer aux instances européennes (Parlement européen) des recommandations qui peuvent devenir des décrets, applicables ensuite à tous les pays membres.

Ainsi l'AFTLM, représentée, donne son avis, sur les décisions prises au niveau européen. Au congrès de l'EPBS, les décisions sont soumises à la « votation ».

L'appartenance à l'EPBS est un atout fondamental pour l'AFTLM. Cet appui se manifeste lors des journées de formations organisées par l'AFTLM mais aussi et surtout durant les journées professionnelles de notre association.

AFTLM : *Gabrielle, comment avez-vous rejoint cette délégation ?*

Gabrielle Vincent : J'ai été sollicitée par un professeur de l'ENPCB contacté par José, le chef de la délégation française. La participation au congrès d'un étudiant par délégation est en effet encouragée par le bureau de l'EPBS. Les discussions et les ateliers ayant lieu en anglais, il faut être anglophone. Il faut être ouvert, apprécier les débats et pouvoir apporter une vision du déroulement des études en France, ainsi que ses espoirs dans la profession de TLM, « Biomedical Scientist », en anglais ! Qu'est-ce que les jeunes étudiants attendent de l'avenir ? Qu'est-ce que les jeunes peuvent apporter pour améliorer la profession ? Voilà deux questions qui sont posées aux futurs professionnels lors des congrès.

AFTLM : *En quoi consistaient vos travaux en 2016 ?*

José Tharsis : Au congrès d'Athènes, les représentants des différentes délégations ont travaillé sur le DPC (Développement Professionnel Continu) et les étudiants sur la création d'une bibliothèque européenne virtuelle d'échange de données. Les débats ont été animés des deux côtés.

Il faut préciser que étudiants et professionnels travaillent séparément chacun autour de leur thème prévu. Les étudiants étaient pris en charge dès leur arrivée par Barbara Kappeller membre autrichien du bureau et responsable des étudiants à l'EPBS.

Un DPC existe dans chaque pays européen mais n'est pas organisé de la même façon. Certains de nos voisins européens sont très en avance au niveau DPC alors que d'autres le sont moins. Le but du congrès 2016 était d'établir un état des lieux au niveau de chaque état membre et ce, afin de formaliser et de proposer un socle commun à atteindre, des solutions pour y parvenir, aidé par l'expérience des plus avancés.

Au congrès d'Athènes, chaque délégation devait fournir quelques semaines avant la réunion, un poster expliquant l'état des lieux du DPC dans leur pays et un court film sur le même sujet.

L'objectif de l'EPBS est d'uniformiser les thèmes des formations qui peuvent prétendre à une reconnaissance DPC.

Pour certains pays les programmes DPC donnent des points ECTS (European Credits Transfer System) en quantité variable en fonction du thème et de la forme de la formation (présentiel, E-Learning, Journée Professionnelle...).

Gabrielle Vincent : Le congrès est composé de deux réunions, une réunissant les délégués des associations et une autre rassemblant des étudiants des différents pays membres, c'est le « Forum étudiant ». Il a son propre sujet de réflexion. Cette année nous devions échanger sur une « bibliothèque virtuelle européenne ».

Celle-ci serait une centralisation des connaissances communes au niveau européen, des cours en E-learning, des congrès à distance... accessible à tous les TLM. Mais, certaines questions de fond et des questions plus pratiques débattues à Athènes, restent encore à régler.

AFTLM : *Quels sont les autres travaux en cours à l'EPBS ?*

José Tharsis : Chaque année un thème nouveau est abordé lors du congrès de l'EPBS. En 2014, le sujet du congrès de Dublin était : « Harmonisation des compétences et des diplômes au niveau européen », suivi en février 2015 d'un mini congrès à Bruxelles sur le même sujet.

En 2015 à Zagreb en Croatie il s'agissait de faire le point au niveau européen sur la biologie délocalisée et ainsi travailler autour de l'introduction de la biologie au plus près du patient (point of care !). En 2016 à Athènes, la réflexion a porté sur les moyens à mettre en œuvre afin de mieux faire connaître la profession de TLM au niveau européen (250 000 TLM en Europe) et l'importance de la biologie dans le diagnostic médical.

Depuis les accords de Bologne en 1999, les diplômes devraient être harmonisés au niveau européen pour l'accès à la profession de TLM. Néanmoins, nous nous apercevons que ce n'est pas le cas, avec de grandes variations d'un pays membre à l'autre. Il faut selon le cas, de 2 à 4 ans d'études, voire plus pour pouvoir exercer la profession et il est encore difficile de pouvoir exercer son métier hors des frontières nationales.

Un niveau licence permet théoriquement de travailler dans tous les pays européens, bien que parfois une validation obligatoire de disciplines nobles soit demandée dans certains pays.

Les travaux de l'EPBS visent l'objectif d'harmoniser le diplôme en 3 ans avec au final un nombre d'ECTS variant de 180 à 240 partout en Europe. Cette harmonisation devra porter également sur les contenus des programmes offerts.

Un rapport sera proposé d'ici la fin de l'année 2017 à la Commission européenne ou au Parlement européen.

Le diplôme de TLM intégrera alors le cursus LMD (Licence Master Doctorat) et les techniciens qui le souhaiteront pourront continuer des études universitaires et aller beaucoup plus loin dans leur cursus.

(Suite page 16)

AFTLM : *Pouvez-vous nous parler du système français actuel ?*

José Tharsis : Il faut tout d'abord savoir que le système français est très complexe puisqu'il propose pas moins d'une dizaine de possibilités d'accès à la profession.

Parmi cette multitude de voies d'accès, trois s'avèrent majoritaires pour l'accès au métier de TLM, les écoles ou lycées de l'éducation nationale préparant au BTS, et les universités de l'enseignement supérieur préparant au DUT en deux ans et d'autre part les instituts de formation du ministère de la santé préparant au DETLM en trois ans.

A ce jour, seuls les diplômés de l'IFTLM d'Amiens bénéficient d'une équivalence au niveau de la licence, puisqu'ils peuvent valider au cours de la troisième année une partie universitaire qui leur permet ainsi d'obtenir les 180 ECTS requis.

Gabrielle Vincent : Je suis en 2^e année de BTS et je souhaite réellement continuer mes études à l'Université. J'aimerais beaucoup suivre à partir de la Licence un programme à l'étranger. C'est ce qui me motive particulièrement : évoluer à partir du métier de TLM.

AFTLM : *Que retirez-vous de cette participation au congrès de l'EPBS ?*

José Tharsis : Je trouve vraiment très enrichissant de travailler avec ses pairs. Je découvre des particularités chaque année ! La relation avec l'EPBS se construit toute l'année car nous travaillons Guillaume et moi en permanence avec le bureau national. Au congrès annuel, nous avons des échanges très constructifs. Chaque pays apporte ses idées et nous aboutissons à des conclusions communes. Ce n'est jamais un pays contre l'autre mais des solutions, un projet commun qui émergent. S'écouter, choisir les avancées des uns et aider ceux qui ont plus de difficultés, pour arriver à un socle commun, des valeurs communes. Voilà ce qui me plaît ! Chacun a une approche différente, complémentaire. Nous essayons de toujours rechercher le positif de l'autre. La façon de travailler lors du congrès est très appréciable, c'est très intense et comme l'a dit Gabrielle, l'ensemble des réunions se font en anglais. Et les résultats sont tangibles !

Gabrielle Vincent : C'est l'occasion de connaître d'autres points de vue, de voir les autres systèmes d'études en Europe, de rencontrer des étudiants européens, de savoir ce qui se passe ailleurs en Europe. J'ai aussi appris que je pourrais exercer mon futur métier partout en Europe.

Mes attentes ont été comblées. L'expérience a été formidable, j'ai même été traductrice anglais-français pour ma collègue belge ! Les conférences sont denses, les débats sont intenses

et animés, entre une quinzaine d'étudiants. Nous pouvons réellement donner notre avis.

Dans certains pays, l'étudiant est choisi par concours ! Il a donc eu le temps de bien se préparer pour le sujet du Forum longtemps avant le congrès.

Au congrès, chaque étudiant doit présenter en anglais un poster sur un sujet qu'il a réalisé lui-même autour d'un thème imposé par l'EPBS. Avant de partir, il y a un gros travail à réaliser en amont. Le meilleur poster est primé par les chefs des délégations.

En 2015, le sujet des posters était « la biologie délocalisée ». Les discussions avaient porté sur ce qu'il y avait de bien ou moins bien dans chaque pays. Et sur ce qui pouvait être amélioré.

En 2016, le poster présenté portait sur le DPC et a permis de faire connaître l'organisation de la France pour le développement professionnel continu.

José Tharsis : La qualité du poster de Gabrielle a été appréciée tout comme l'avait été celle d'Edouard étudiant de l'IFTLM de Paris en 2015 !

Gabrielle Vincent : Lors du congrès d'Athènes, j'ai noué de très bons contacts et j'échange avec eux régulièrement. Je me suis rendue compte que les systèmes étaient vraiment différents d'un pays à l'autre !

Enfin, j'ai vraiment apprécié l'ambiance détendue mais studieuse, sans hiérarchie, qui favorise énormément les travaux.

José Tharsis : En 2017, le prochain congrès de l'EPBS aura lieu à Salzbourg en Autriche, le 12 octobre. Il aura pour thème « L'apport et la valeur ajoutée du TLM dans le système de Santé ».





XIV^{ème} Journée Professionnelle de l'Association Française des Techniciens de Laboratoire Médical

Vendredi 17 Novembre 2017

**Technicien de laboratoire médical...
... le risque maîtrisé**

**Conservatoire national
des arts et métiers
292, rue Saint Martin
75003 PARIS**

**RATP : Lignes 3 et 11 Station : Arts & métiers
Ligne 4 Station : Réaumur-Sébastopol**

BUS : Lignes 20 - 38 - 39 - 47

Programme du vendredi 17 novembre 2017

Eligible Développement Professionnel Continu (DPC)

08h00 - 08h45 : Accueil des participants

09h00 : Ouverture de la journée

Pierre DUCELLIER,
Président de l'AFTLM

**Technicien de laboratoire médical...
... le risque maîtrisé**

09h15 : Gestion du processus préanalytique
(DPC)

Güler AYDIN,
*Responsable Assurance Qualité,
Hôpital Cochin, Paris*

10h00 : Processus préanalytique :
Quelles actions pour une
amélioration continue de la qualité ?
(DPC)

Virginie GABA,
*Cadre supérieur de santé, Responsable qualité,
gestion des risques,
Hôpital Necker - Enfants malades, Paris*

10h45 : Pause

11h00 : Principaux risques à gérer en
bactériologie : Retour d'expérience
d'un auditeur COFRAC

Luc ESSEMILAIRE,
Biologiste, auditeur COFRAC

11h45 : Le prélèvement :
une relation humaine

Mario CANALE,
*Technicien de laboratoire médical,
Hôpital Saint Joseph, Paris*

12h30 : Pause déjeuner

14h00 : Recherche des particules exogènes
dans un contexte d'anthropologie
médico-légale

Catherine CANNET,
*Technicienne de laboratoire médical, chargée
du laboratoire d'histomorphométrie
en institut médico légal, Strasbourg*

14h45 : Technicien de laboratoire médical
en recherche

Johnny BLOMBLED,
*Cadre médicotechnique en R&D,
Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif*

15h30 : Territoires et biologie

Eric ROUSSEL,
*Directeur de la stratégie et des affaires médicales,
Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière /
Charles Foix, Paris*

16h15 : Actualités professionnelles

Pierre DUCELLIER,
Président de l'AFTLM
Evelyne PSALTOPOULOS
Edwige CAROFF,
vice-présidentes de l'AFTLM
Myriam DELVIGNE,
Présidente du CNPTLM

16h30 : Résultats du concours photo
AFTLM 2017
«L'art au laboratoire»

16h45 : Clôture de la journée

Nouveauté : l'inscription à la journée professionnelle 2017 inclut la participation gratuite à 2 ateliers DPC
(informations sur le site : www.aftlm.fr)

Inscription

Enregistrée sous le numéro 11 95 05203 95. Cet enregistrement ne vaut pas agrément de l'Etat.

Feuillet d'inscription à compléter et à retourner, accompagné de son règlement à :
AFTLM - XIV^{ème} journée professionnelle - c/o Myriam DELVIGNE - Bourg de Monfort - 24200 VITRAC
ou par mail (scanné) : my.delvigne@gmail.com

Nom : Prénom :

Centre hospitalier de :

Laboratoire : Fonction :

Adresse :

Téléphone :

Adresse personnelle :

email :

FRAIS D'INSCRIPTION*

	Avant le 15/10/2017	Après le 15/10/2017
Inscription à titre individuel		
<i>Non remboursable par la Formation continue</i>		
Non Adhérent AFTLM	325 €	375 €
Adhérent AFTLM	275 €	325 €
Étudiant (joindre un justificatif)	170 €	225 €
Inscription à titre Institutionnel		
<i>Remboursable par la Formation continue</i>		
Non Adhérent AFTLM	375 €	475 €
Adhérent AFTLM	350 €	450 €

Inscription à titre individuel :

Je soussigné(e),
souhaite m'inscrire à la XIV^{ème} journée professionnelle AFTLM. A cet effet, je règle par chèque
bancaire ou postal à l'ordre de l'AFTLM la somme de : €
A le / /2017

Signature :

Inscription à titre Institutionnel :

Je soussigné(e),
souhaite l'inscription de l'agent ci-dessus référé et demande la transmission d'une convention
aux fins de régularisation de la situation administrative et financière de cette action.
A le / /2017

Signature et cachet de l'établissement :

*Tout désistement doit se faire par écrit auprès de l'AFTLM – XIV^{ème} journée professionnelle c/o Myriam DELVIGNE Bourg de Monfort – 24200 VITRAC. Après le 15/10/2017, il fera l'objet d'une retenue de 25% du montant des droits. Aucun remboursement ne pourra être effectué, l'intégralité des droits d'inscription restant exigible. Nous vous adresserons en contrepartie les documents de présentation. Il est possible de céder votre droit de participation en nous communiquant par écrit les noms et coordonnées du remplaçant. Le comité d'organisation ne pourra pas tenir compte des désistements liés aux problèmes de transports (grèves, aléas des transports).



S'inscrire à la

XIV^{ème} journée professionnelle

Envoyer les inscriptions à l'adresse suivante :

c/o Myriam DELVIGNE

Bourg de Monfort - 24200 VITRAC

my.delvigne@gmail.com

nous contacter ou adhérer :

Association Française des

Techniciens de Laboratoire Médical

c/o Pierre DUCCELLIER

67, rue de Conflans - 95220 HERBLAY

Tel : +33 (0)1 44 12 67 67

www.aftlm.fr



Membre du Conseil National Professionnel des Techniciens de Laboratoire Médical - CNPTLM

Membre de l'European association for Professions in Biomedical Science - EPBS

Membre fondateur de l'Union InterProfessionnelle des Associations de Rééducateurs et Médicotéchniques - UIPARM

le cnam
Conservatoire national
des arts et métiers

UIPARM
Union Inter Professionnelle des Associations
de Rééducateurs et Médicotéchniques



Des techniciens pas comme les autres La banque de tissus de greffons de Montpellier

Cécilia AUBINEAU et David CHARRAT

TLM, CHU de Montpellier
Contact : communication@aftlm.fr



La banque de tissus de greffons du CHU du Montpellier a été créée en 1988. A l'époque, elle ne comptait qu'une seule technicienne de laboratoire médical. Avec l'augmentation de l'activité, l'équipe est désormais composée de quatre techniciens qui s'intègrent parfaitement à la chaîne du don.

Summary

Cecilia, Amandine and David, three medical laboratory technicians attest of their activities and their mission in tissue's bank at Montpellier Hospital.

De jour comme de nuit, au bloc opératoire, à la chambre mortuaire, en salle blanche, aux côtés des infirmiers, des chirurgiens ; le moins que l'on puisse dire, le métier de technicien de laboratoire à la banque de tissus de Montpellier n'est pas un métier ordinaire.

Il existe une vingtaine de banques de tissus sur le territoire français. Celle du CHU de Montpellier est l'une des plus importantes banques publiques du fait de la grande diversité de greffons qu'elle est autorisée à conserver. Elle collabore avec plusieurs établissements de santé de la région et des départements alentour.



La loi de bioéthique

En France, le don d'organes et de tissus est soumis à la loi de bioéthique. C'est l'agence de la biomédecine qui a pour responsabilité de faire appliquer cette loi. Elle veille à la sélection du donneur, aux bonnes conditions de prélèvement et d'utilisation des greffons.

La loi de bioéthique stipule que le don est basé sur le consentement présumé, c'est à dire qu'en principe tout le monde est considéré comme donneur d'organes et de tissus ; à moins qu'il ne s'y soit opposé de son vivant en s'inscrivant sur le Registre National des Refus (RNR). Le RNR est un outil mis en place par l'Etat, accessible sur internet, permettant à n'importe quel français, à l'aide de sa carte d'identité, de s'inscrire pour signaler son opposition au don. Le plus simple reste d'informer ses proches de sa position vis-à-vis du don. En effet, bien que la loi se base sur le consentement présumé, le prélèvement s'effectuera toujours avec l'accord des proches du défunt.

La carte de donneur permet en effet de connaître la position du défunt vis-à-vis du don mais n'a cependant aucune valeur juridique.

Prise en charge

La prise en charge d'un donneur est sous la responsabilité d'un médecin coordinateur de prélèvement, toutefois le déroulement est géré par des infirmiers de coordination. Ils gèrent toute l'organisation du prélèvement, ils régulent les

(Suite page 22)



différentes équipes de prélèvement. Ce sont ensuite les chirurgiens qui effectuent les prélèvements en fonction de leurs spécialités et du type de greffon à prélever. Un prélèvement d'organe peut parfois s'étendre jusqu'à douze heures. Durant cette durée, le coordinateur est responsable du donneur. L'équipe des techniciens de laboratoire du CHU de Montpellier, a pour particularité d'être parmi les rares techniciens de banque à assister au prélèvement des tissus qu'elle conserve. Bien qu'une partie des prélèvements provienne des établissements partenaires, tous les prélèvements qui ont lieu à Montpellier sont effectués en présence du technicien.

Les tissus prélevés sont destinés à l'usage thérapeutique. Chaque banque de tissus doit être autorisée par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM), pour traiter, conserver et distribuer chaque type de greffons. C'est elle qui va s'assurer du respect des bonnes pratiques du prélèvement jusqu'à la greffe. Elle procède à des inspections régulières (tous les 2 ans) pour contrôler qu'il n'y a pas d'écarts dans les pratiques, que le personnel soit habilité ou encore que les locaux soient compatibles avec l'activité du service.

Le technicien de la banque de tissus travaille au contact de personnes décédées, sur lesquelles il est possible de prélever les cornées (partie transparente de l'œil), la peau, les artères, les valves cardiaques et les os longs du squelette. Des règles strictes de restitution tégumentaire obligent les préleveurs à respecter l'intégrité du corps. Il est donc prévu, pour les os et les cornées, une prothèse de remplacement. La fermeture des incisions doit être également parfaite comme si le défunt venait de subir une opération ordinaire.

A l'inverse, d'autres tissus peuvent se prélever sur un donneur vivant ; en effet, les têtes fémorales et les membranes amniotiques qui sont toutes deux qualifiées de résidus opératoires peuvent après manipulation en banque devenir des greffons à part entière.

La banque conserve également des greffons autologues dans le but de les réimplanter ultérieurement, c'est le cas du volet crânien et des crêtes iliaques. Lorsque le chirurgien souhaite récupérer ces greffons pour les réimplanter, il adresse une ordonnance à la banque de tissus pour qu'elle puisse lui délivrer.

Déroulement du prélèvement

Avant l'entrée au bloc opératoire, le coordinateur met en préalerte le technicien, pour lui permettre de préparer les solutions de prélèvement et les kits de transports. Le technicien intervient lorsque le prélèvement d'organe est terminé. Il va veiller au bon déroulement du prélèvement des tissus. Le chirurgien procède au prélèvement du greffon puis le place dans un kit de transport scellé contenant une solution avec des antibiotiques. Le prélèvement s'effectue dans des conditions de stérilité identiques à celle d'un prélèvement d'organe. Le préleveur est chargé de signer les fiches de prélèvement que le technicien a apportées avec lui afin de garantir la traçabilité. Une fois le prélèvement terminé, le technicien achemine les prélèvements jusqu'à la banque de tissus.

La banque de tissus est un service qui collabore avec différentes spécialités. Le greffon est donc utilisé dans différents cas :

- **En orthopédie**, les têtes fémorales et les os massifs seront utilisés broyés pour faire du comblement osseux, ou alors tel quel pour remplacer un membre atteint d'un ostéosarcome (cancer de l'os) évitant dans certains cas une amputation.

- **En ophtalmologie**, les greffons utilisés sont les cornées et les membranes amniotiques. La cornée est la lentille transparente qui protège l'œil de l'extérieur. Elle sera greffée chez un receveur qui présente des anomalies sur sa cornée. Dans certains cas, elle va permettre au patient atteint de cécité de retrouver une acuité visuelle. La membrane amniotique quant à elle va être greffée de façon temporaire en tant que pansement oculaire dans les inflammations aiguës ou chroniques de l'œil.

- **En chirurgie digestive**, cardio-thoracique et vasculaire, les artères vont être préconisées lors de remplacement d'artère artificielle infectée ou lors de risque de rupture d'anévrisme artériel. Les valves cardiaques sont greffées en remplacement des valves du receveur en cas de dysfonctionnement de ces dernières.

- **Dans le cas des grands brûlés**, une greffe de peau sera indispensable pour éviter le risque de déshydratation ou d'infection.

Conservation des organes

Les organes ne peuvent pas rester longtemps hors du corps humain, ce qui oblige à les transplanter dans les quelques heures qui suivent le prélèvement et ce en tenant compte de la compatibilité entre le donneur et le receveur. Pour les tissus, le temps entre le prélèvement et la greffe peut être très long, car grâce à des techniques de cryopréservation certains

tissus pourront être conservés plusieurs années. De plus, cela n'implique pas de notion de compatibilité entre de donneur et le receveur. Pour les greffons cornéens, l'exception immunitaire de la sphère oculaire, l'absence de vascularisation de la cornée et un traitement post greffe à base de corticoïdes limitent les risques de rejet. C'est également vrai pour les patches de membrane amniotique greffés sur la surface oculaire. Pour les tissus vasculaires et osseux, la cryopréservation limite les risques d'incompatibilité, bien que, parfois, il arrive qu'un rejet lent, chronique s'installe pour les artères greffées ou qu'une immunisation Rhésus apparaisse chez le receveur d'un os long d'un donneur Rhésus positif. Pour la peau destinée aux grands brûlés, le rejet est normal et survient dans une quinzaine de jours après la greffe, les greffons rejetés sont remplacés par de nouveaux greffons. Dans tous les cas, les rejets lorsqu'ils surviennent n'ont rien de commun en intensité ou en gravité avec les rejets observés lors de greffes d'organes. En pratique courante, sauf demande spécifique d'un chirurgien, aucune histocompatibilité n'est requise.



Mission du technicien

La mission du technicien d'une banque de tissus va être de réceptionner, transformer, sécuriser, stocker et distribuer ces tissus issus de prélèvement de donneur vivant ou décédé. Le mode de conservation varie suivant les tissus. Pour les artères, la peau, les valves et les os massifs prélevés avec leurs annexes ligamentaires, la conservation s'effectue en vapeur d'azote liquide à -140°C . Avant d'être conservés à cette température le technicien va conditionner

chaque tissu dans des poches contenant une solution cryoprotectrice ayant pour but de limiter la formation de cristaux pendant la congélation, néfaste et dangereuse pour l'intégrité des cellules lors de la décongélation. La durée de conservation en vapeur d'azote est de 10 années. Pour ce qui est des têtes fémorales, des os massifs prélevés sans extension ligamentaire et des volets crâniens, la conservation s'effectue dans un congélateur à -80°C et peut durer 5 années. Les membranes amniotiques sont aussi conservées dans ces congélateurs à -80°C mais leur durée de conservation est de 2 ans. Contrairement aux autres tissus les cornées ont une durée de conservation beaucoup plus courte car elles sont préservées dans un milieu d'organoculture liquide. La conservation maximale est de 31 jours.



La manipulation de ces tissus est effectuée par les techniciens, en zone à atmosphère contrôlée, sous un poste de sécurité microbiologique (PSM) afin de minimiser le risque de contamination du produit. Une fois les tissus stockés, validés bactériologiquement et sérologiquement, ils seront distribués par les techniciens sur ordonnance nominative pour le jour de la greffe.

Les techniciens de la banque de tissus sont soumis aux astreintes afin de permettre d'assurer 24h/24, 7J/7 une continuité dans la prise en charge des prélèvements de tissus mais également pour pouvoir assurer la distribution en urgence de greffons tels que les artères ou les valves cardiaques qui en cas de défaillance, représentent des urgences vitales avec pour seule action thérapeutique, le remplacement des parties atteintes avec un greffon (thérapeutique substitutive).

Les perspectives en termes d'avenir laissent encore de beaux jours aux techniciens de banque de tissus car en effet, les techniques de conservation des tissus ne sont pas automatisables.

La recherche progresse, laissant apparaître de nouvelles techniques de greffe, notamment pour la cornée, impliquant la mise en place de nouvelle manipulation des greffons cornéens. Ces évolutions permettent aux patients de bénéficier d'opération moins lourde, avec de meilleurs résultats.

Cécilia, technicienne à la banque depuis trois ans :

« Je suis titulaire d'un BTS d'Analyses de Biologie Médicale, et je n'avais jamais entendu parler de toutes ces techniques de thérapie tissulaire. Ce métier est pour moi très valorisant, j'œuvre au quotidien pour soigner des gens, c'est exactement ce que je venais chercher en travaillant à l'hôpital. »

David, technicien à la banque depuis un an :

« Arrivé depuis un peu plus d'un an à la banque de tissus, j'ai été surpris par la polyvalence que demandait ce type de poste complètement atypique dans lequel je m'épanouis pleinement. Travailler à la banque de tissus est pour moi le moyen de me sentir vraiment impliqué dans l'amélioration de la santé de tous les patients qui peuvent et qui ont pu bénéficier des greffons de la banque. »

Amandine, technicienne à la banque depuis six mois :

« Il y a moins d'un an, je fus diplômée d'un BTS d'Analyses de Biologie Médicale, et j'ai pu quelques mois plus tard être en poste à la banque de tissus de Montpellier. Comme premier poste en tant que technicienne de laboratoire, je ne pouvais espérer mieux car ce domaine me responsabilise, demande beaucoup de rigueur et surtout permet d'améliorer la qualité de vie des patients au quotidien. Ce travail me passionne chaque jour par sa diversité des tâches et par la satisfaction qu'on peut avoir en donnant cette meilleure qualité de vie aux personnes. »

Le NGS, une aide au diagnostic des maladies métaboliques rares

Agnès BOURILLON

Ingénieur en biologie médicale et Mireille Nicolas, TLM, service de Biochimie Hormonologie, secteur de biologie moléculaire, Hôpital Robert-Debré, APHP, Paris.
Contact : agnes.bourillon@aphp.fr

Le service de Biochimie-Hormonologie de l'Hôpital Robert-Debré de l'APHP comprend 5 secteurs d'activité : la Biochimie Générale, la Biochimie Fœtale et Placentaire, le Dépistage Néonatal de la Drépanocytose, la Biochimie Métabolique et l'Hormonologie.

48 personnes travaillent dans ce service : 15 biologistes (10.9 ETP), 1.5 cadres, 26 techniciens (24.6 ETP), 2 ingénieurs, 2 secrétaires médicales et 1 agent administratif. L'activité quasi exclusivement pédiatrique est d'environ 30 millions de B+BHN/an.

Summary

Agnès Bourillon, engineer in medical biology and Mireille Nicolas explains the benefits of using the Next Generation Sequencing (NGS) for the diagnosis and study of rare metabolic diseases related to the urea cycle.

Le service de Biochimie-Hormonologie de l'hôpital Robert-Debré à Paris, possède deux secteurs de génétique moléculaire, l'un dédié à l'étude des pathologies endocriniennes et l'autre à celle des maladies métaboliques. Nous avons choisi de parler du secteur des maladies métaboliques, rattaché au Centre de Référence des Maladies Rares métaboliques de l'hôpital. Nous étudions dans le service le phénotype et le génotype de ces maladies. Pour certains gènes concernés, nous sommes le seul laboratoire en France à les étudier.

Nous avons choisi d'aborder ici les maladies du cycle de l'urée, avec trois exemples de pathologies étudiées dans notre laboratoire (Tableau 1). Les déficits du cycle de l'urée sont des pathologies dans lesquelles le foie n'est plus capable d'épurer l'ammoniaque comme il doit le faire. La présen-

tation clinique de ces déficits est celle d'une intoxication par l'ammoniaque qui se traduit par une atteinte neurologique allant de la simple somnolence jusqu'au coma profond, des signes digestifs (nausées, vomissements) et des troubles du comportement (agressivité).



	Déficit en Ornithine TransCarbamylase	Citrullinémie	Syndrome HHH (Hyperammoniémie, Hyperornithinémie, Homocitrullinurie)
Gène, Transmission et présentation clinique	<p>OTC, liée à l'X</p> <ul style="list-style-type: none"> - Garçon : détresse neurologique sévère (souvent léthal chez le nouveau-né, mais formes modérées non rares) - Fille et femme : tableau clinique de sévérité variable 	<p>ASS1 autosomique récessive</p> <p>révélation à tous les âges en fonction de l'activité résiduelle</p>	<p>ORNT1, autosomique récessive - rarement révélée en période néonatale</p>
Diagnostic biochimique	<ul style="list-style-type: none"> - Acides Aminés (AA) plasmatiques : Gln ↗, Cit ↘ - ↗ acide orotique et uracile urinaires 	<ul style="list-style-type: none"> - AA plasmatiques : Cit ↗, Gln ↗ : acide orotique urinaire ↗ 	<ul style="list-style-type: none"> - AA plasmatiques : Orn ↗, Arg N, Cit N, Gln ↗, homocitrulline ↗ - AA urinaires : Orn ↗, homocitrulline ↗

Tableau 1 : Quelques caractéristiques biologiques

De nombreux autres déficits existent au niveau de cette voie métabolique pouvant donner des tableaux cliniques comparables et pas toujours facilement différenciables sans l'apport de la génétique moléculaire.

Nous faisons donc l'étude génétique afin de confirmer la pathologie, d'orienter le(s) traitement(s) et surtout de proposer un diagnostic prénatal aux familles concernées.

Les techniques d'analyse

De nombreuses techniques permettent de faire un diagnostic génétique. La plus classique consiste à séquencer les gènes candidats à la recherche de mutation. La méthode classique est le séquençage selon la méthode de Sanger. Cependant, depuis quelques années, l'apparition de séquenceurs de nouvelle génération NGS (Next Generation Sequencing) utilisant une autre méthode offre plus de possibilité d'analyse et permet un rendu du résultat plus rapidement, surtout quand il existe plusieurs gènes candidats pour une même pathologie.



(Suite page 26)

Le NGS, une aide au diagnostic des maladies métaboliques rares (suite)

Les différences entre les deux techniques sont résumées ci-dessous :

	Séquençage selon la méthode de Sanger	Séquençage par NGS
Préparation des échantillons avant séquençage et durée	<p>Il faut réaliser pour chacun des exons des gènes à étudier :</p> <ul style="list-style-type: none"> - une PCR exon spécifique (vérification sur gel du produit de PCR) - Purifier les produits PCR - Réaliser les réactions de séquence - Purifier les produits de séquence <p>2 jours de technique</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Fragmentation de l'ADNg - Hybridation avec sondes d'intérêt - Indexation des patients - Amplifications simultanées de tous les exons de tous les gènes étudiés - Validation et quantification des bibliothèques - Pool des bibliothèques <p>3 à 4 jours de technique</p>
Séquençage	<p>Electrophorèse : durée de 6h pour 96 puits dans un séquenceur comprenant 16 capillaires pour le 3130XL (société Life Technologies)</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Réalisation de la réaction de séquence sur la Flow cell : durée 25 h sur le MiSeq (société Illumina) soit 2 x 151 cycles (read1 et read2)
Nombre de patient(s) et Gène(s) étudié(s) simultanément	<p>Dans une plaque de 96 puits (<i>Figure 1</i>) il faut 2 puits par exon et par patient. Par exemple pour le gène CPS1 (39 exons), 1 seul patient par plaque est possible</p>	<p>64 gènes pour 16 patients sur une flow cell (<i>Figure 2</i>)</p>
Analyses et conséquences en cas de résultats négatifs	<ul style="list-style-type: none"> - Analyse du gène positive => rendu du résultat - Analyse du gène négative => nouvelle PCR afin d'étudier un nouveau gène impliqué dans la pathologie 	<ul style="list-style-type: none"> - Analyse du gène ciblé positive => rendu du résultat - Analyse du gène ciblé négative => analyse de façon séquentielle des autres gènes impliqués dans la pathologie
Taille des fragments analysables	<ul style="list-style-type: none"> - Limite de la taille des fragments à analyser (maximum 800 pb) - Perte de la qualité des séquences à environ 25 pb en aval des amorces 	<ul style="list-style-type: none"> - Possibilité d'analyser les mutations introniques profondes (par exemple en position - 644 ou +1323 des exons)

Tableau 2 : Comparaisons techniques en prenant l'exemple pratiqué au laboratoire



Figure 1 : Plaque de 96 puits pour les séquenceurs capillaires



Figure 2 : Flow cell pour le MiSeq®

L'analyse des données générées par les deux types de séquenceurs a nécessité une adaptation pour passer d'une analyse de séquence à l'autre. Pour mieux comprendre, un rappel va être fait sur leur principe et leur fonctionnement.

Les séquenceurs pour l'analyse selon la méthode de Sanger

On utilise des séquenceurs capillaires (Figure 3) pouvant comprendre 1, 4, 16, 48 ou 96 capillaires, en fonction du modèle de l'appareil.

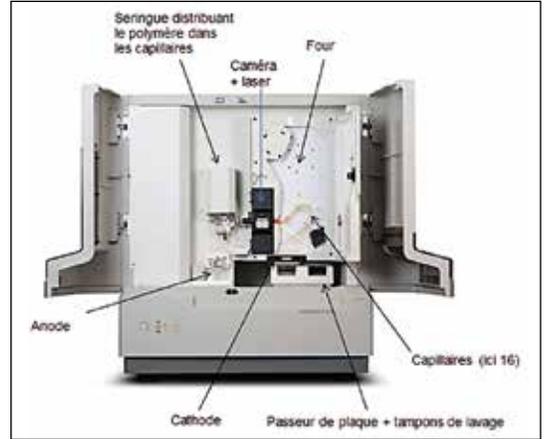


Figure 3 : Séquenceur 3130XL de la société Life Technologies

La réaction de séquence, qui consiste en la synthèse in vitro de l'ADN, avec une incorporation aléatoire de didésoxyribonucléotides marqués par des fluorochromes (ddNTP bloquant l'élongation du brin en cours de synthèse) à partir d'une matrice PCR purifiée, est réalisée en amont du passage sur l'appareil. De multiples fragments de différentes tailles, tous marqués par un fluorochrome terminal et produits au cours de la réaction de séquence sont séparés par électrophorèse en fonction de leur taille. Les fluorochromes seront excités aux 4 longueurs d'ondes spécifiques (une par type de nucléotide A, T, G, C) lors du passage devant la caméra. La migration dans le séquenceur se fait de la cathode vers l'anode. Le schéma de la Figure 4 représente les 4 longueurs d'ondes testées, ainsi que la fluorescence détectée par la caméra pour chaque base.

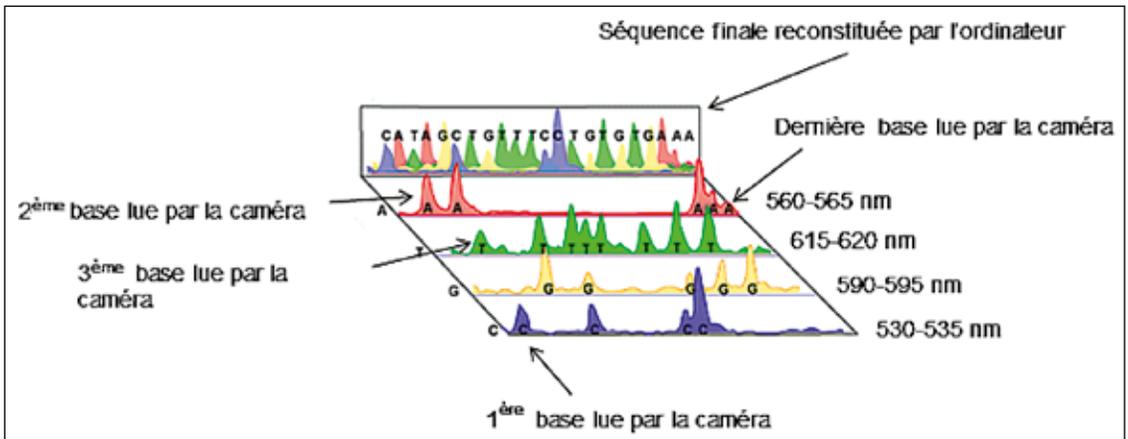


Figure 4 : Schéma de la détection de la fluorescence des fluorochromes

(Suite page 28)

Le NGS, une aide au diagnostic des maladies métaboliques rares (suite)

L'ordinateur, intégré au séquenceur retranscrit un électrophérogramme de façon à interpréter plus facilement les résultats. Ces électrophérogrammes sont ensuite alignés avec une séquence de référence afin de détecter les disparités existantes (Figure 5).

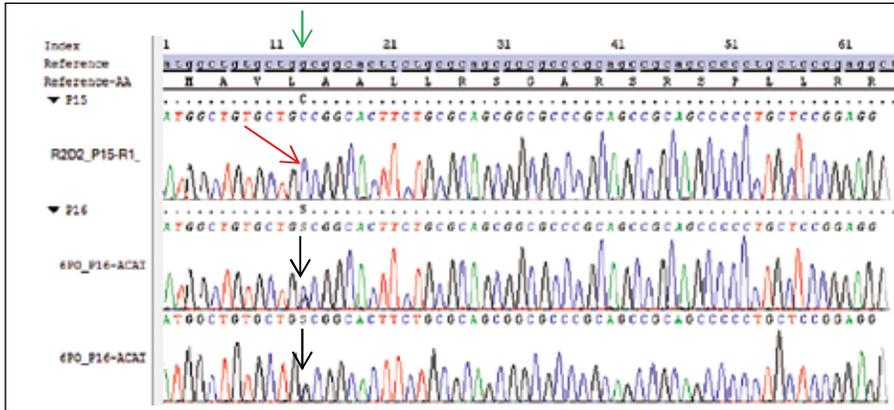


Figure 5 : Résultat d'électrophérogrammes (logiciel SeqScape® de la société Life Technologies)

On peut voir l'alignement d'électrophérogrammes de deux patients différents, par rapport à une séquence de référence (surlignée en violet). Ainsi on constate que le patient P15 possède un variant à l'état homozygote (présence d'un C (flèche rouge) à la place d'un G (flèche verte)). En revanche, le patient P16 possède un variant à l'état hétérozygote, puisque sur le profil on aperçoit deux couleurs superposées, le noir (G) et le bleu (C) (flèches noires).

Figure 6 : Schéma du MiSeq® et de ses réactifs (société Illumina)



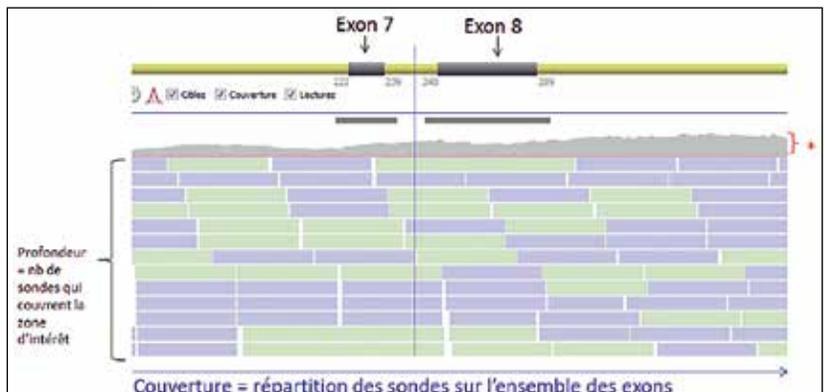
Les séquenceurs NGS

Comme indiqué dans le Tableau 2, pour l'utilisation des NGS, une préparation de la bibliothèque, en amont, avec indexation (Figure 9 P 32) des patients ainsi que la réalisation du pool des patients est indispensable. Dans notre laboratoire, nous passons sur une même flow cell, 16 patients poolés de façon équimolaire (c'est ce que l'on appelle le multiplexage).

Contrairement aux séquenceurs capillaires, c'est dans le séquenceur, ici le MiSeq® de la société Illumina (Figure 6), que la réaction de séquence a lieu, après fixation des bibliothèques des patients sur un support solide appelé flow cell (Figure 2).

Figure 7 : Schéma issu du logiciel Alamut® expliquant la profondeur et la couverture.

* On peut voir ici que la profondeur varie entre 130X (zone la plus basse) et 309X (zone la plus haute).



Les données générées par le NGS sont très différentes de celles obtenues par la méthode de SANGER et doivent être transformées afin de pouvoir être analysées. Ceci se fait maintenant automatiquement sans avoir recours à un bioinformaticien.

A la fin d'un run :

- Les données brutes générées sont des fichiers .bcl. qui vont ensuite être démultiplexés (c'est-à-dire que chaque patient va être séparé et associé à son index pour donner des fichiers fastQ comprimés). Un fichier fastQ sera généré spécifiquement par patient et par read.

- Afin de pouvoir les analyser, ces fichiers, doivent être transformés à l'aide d'un ou de deux logiciels différents, pour obtenir des fichiers .bam, .bam.bai et .vcf.

- Les fichiers .bam et .bam .bai vont permettre de visualiser la couverture, la profondeur (Figure 7) et la position des variants, les discordances par rapport à la séquence de référence (Figure 8), les variants retrouvés annotés (Tableau 3), par exemple.

Sur la Figure 8, on peut voir deux couleurs de sondes différentes : les vertes correspondent au read 1 (151 premiers cycles de passage sur le NGS) et les bleues au read 2 (les deuxièmes 151 cycles).

On peut remarquer la présence d'un A, réparti aussi bien sur les sondes du read 1 que sur celles du read 2, à la place d'un G attendu au niveau de la séquence de référence. Le fait que ce A ne se retrouve pas sur tous les read 1 et read 2 signifie que ce variant est présent à l'état hétérozygote.

Le fichier .vcf a annoté les variants, fait une prédiction *in silico*, et donne tous les variants retrouvés pour chaque patient.



Figure 8 : Schéma issu du logiciel Alamut® montrant la présence d'un variant après alignement avec la séquence de référence pour un seul patient (ici le patient n° 90817)

Zygo sity	Freq	Read count	Read coverage	Geno type	Gene Cards	Aminoacid change in long est transcript	Coding region change in long est transcript	Non-synonymous	dbSNP	Exon Number
HTE	49	146	300	C/T	SLC25A15		ENST000003386 25 : c.56- 249C>T	-	2297013	
HTE	47	301	614	C/T	SLC25A15	EN SP00000342267 : p. Gln 38 *	ENST000003386 25 : c.112C>T	Yes		3/7
HTE	41	154	376	A/G	SLC25A15	EN SP00000342267 : p. Arg236Gly	ENST00 0003386 25 : c. 706A >G	Yes		6/7
HTE	41	159	392	A/T	SLC25A15	EN SP00000342267 : p.II e254Leu	ENST000003386 25 : c.760A>T	Yes	17849654	6/7
HTE	39	158	407	C/T	SLC25A15		ENST000003386 25 : c.781 + 75T>C	-	60754171	
HTE	55	26	49	A/G	SLC25A15		ENST000003386 25 : c.782-164A>G	-	2004000	
HTE	53	48	91	A/T	SLC25A15		ENST000003386 25 : c.* 48T>A	-	145530626	7/7
HTE	55	59	108	A/G	SLC25A15		ENST000003386 25 : c.* 353A >G	-	9549293	7/7

Tableau 3 : Exemple de résultats simplifiés obtenus à partir d'un fichier vcf (Variant Call Format) issu du logiciel Biomedical Genomics Workbench de la société Qiagen

(Suite page 30)

Le NGS, une aide au diagnostic des maladies métaboliques rares (suite)

- **Zygosity** : HTE : variant hétérozygote
- **Freq** : 100 dans le cas d'un homozygote et +/- 50 dans le cas d'un hétérozygote
- **Read count** : correspond au nombre de fois où la base changée a été retrouvée
- **Read coverage** : correspond à la profondeur à l'endroit où le variant est présent
- **Genotype** : correspond à la base normale et à celle changée :
 - C/T : base normale C, base changée T, état hétérozygote
 - A/G : base normale A, base changée G, état hétérozygote
- **Gene Cards** : nom du gène étudié. Ici il s'agit du gène *SLC25A15* ou *ORNT1* (du cycle de l'urée)
- **Amino acid change in longest transcript** : nom du transcrit issu de la base de données Ensemble et nomenclature de la protéine
- **Codong region in longest transcript** : idem sauf que l'on a, dans ce cas, la nomenclature du variant au niveau du cDNA
- **Non synonymous** : indique si le variant est silencieux ou non
- **dbSNP** : référence du variant dans les bases de données (1000 génomes ou ExAc) si le variant est connu. L'absence de numéro signifie que ces variants ne sont pas connus dans les bases de polymorphismes
- **Exon Number** : correspond au numéro de l'exon dans lequel se trouve la mutation

Dans le **Tableau 3** (voir P 29), les lignes surlignées en vert pâle correspondent aux deux mutations retrouvées pour le patient. Le troisième variant p.Ile254Leu, possède un numéro dbSNP. C'est un variant que l'on retrouve à une fréquence très élevée de 32 % dans la population générale, donc il est peu probable que ce variant soit responsable de la pathologie.

D'hier à aujourd'hui

Avant l'arrivée des séquenceurs nouvelle génération, nous effectuions le séquençage selon la méthode de Sanger. L'inconvénient majeur de cette méthode est que le séquençage ne se fait que « séquentiellement » c'est-à-dire exon après exon et gène après gène.

L'arrivée des NGS nous a permis, de séquencer l'ensemble des gènes impliqués dans la voie métabolique du cycle de l'urée en une seule fois, avec la possibilité d'identifier des mutations introniques (dans l'intron) profondes ou régulatrices, connues dans la littérature (HGMD : Human Gene Mutation Database). De ce fait, lorsqu'un gène potentiellement candidat à la pathologie est négatif, on traite uniquement les données générées sans avoir à refaire la technique pour les autres gènes.

Avantage à passer sur le NGS

Exemple d'un patient mal orienté par l'étude biochimique et pour qui le NGS a permis d'identifier la pathologie, pour pouvoir proposer un diagnostic prénatal à la famille.

Nous avons reçu un prélèvement pour une demande orientée vers un déficit en OTC :

- Le gène OTC a été analysé selon la méthode de Sanger. Aucune mutation n'a été identifiée.

- L'analyse a été répétée repartant de l'ADN natif afin de prévenir une erreur de prélèvement lors de l'analyse. Le résultat était le même.

- Un second prélèvement nous a été envoyé, l'analyse du gène OTC a été à nouveau réalisée sur ce prélèvement. Le résultat s'est avéré identique. Nous avons finalement lancé l'analyse par NGS et avons trouvé des mutations dans le gène *ORNT1*. Il s'agissait donc d'un Syndrome HHH avec une mauvaise orientation initiale.

- Après contact avec le laboratoire ayant réalisé les analyses biochimiques, il s'est avéré, qu'il y avait présence d'un pic spécifique sur le chromatographe qui aurait pu nous orienter dès le départ vers cette pathologie. L'analyse par NGS en première intention nous aurait permis de gagner du temps et de conclure sur cet autre déficit qui ne peut être retrouvé en Sanger que si l'on se donne les moyens d'analyser un à un tous les gènes pouvant donner un tableau clinico-biologique approchant.

Inconvénient du NGS

L'inconvénient principal du séquençage nouvelle génération réside dans le fait que de nombreux variants sont découverts, variants pour lesquels nous ne connaissons pas forcément l'impact sur la protéine. Il faudrait pour cela pouvoir réaliser des études fonctionnelles d'expression de ces variants dans des modèles cellulaires, ce qui n'est pas toujours envisageable au laboratoire, car trop coûteux à mettre en place vu le nombre de variants retrouvés. Cependant il sera nécessaire ultérieurement que certains laboratoires se spécialisent dans ce domaine.

L'adaptation de notre laboratoire

L'arrivée des séquenceurs nouvelle génération nous a permis de passer de l'étude d'une vingtaine de gènes à 105 gènes.

Cette mise en place a pris beaucoup de temps, car il faut définir le design des zones d'intérêt que l'on souhaite étudier. Ceci peut prendre plusieurs semaines en fonction du nombre et de la taille des gènes. Une fois le design validé biologiquement, il faut compter 4 à 6 semaines pour la synthèse des sondes.

La validation technique de ce design, est faite par la confirmation de mutations ou variants retrouvés en NGS et par séquençage selon la méthode de Sanger, ainsi que par l'utilisation de contrôles de qualité (sujet que nous n'aborderons pas ici).

Le technicien expert dans le domaine repère rapidement les zones du génome qui sont moins bien couvertes et interagit avec l'ingénieur qui prend en compte les remarques et améliore le design des zones litigieuses lors de la préparation de la nouvelle bibliothèque.

L'arrivée des NGS, nous a contraint à changer notre processus d'inclusion des patients et le rendu des résultats.

Ainsi, nous avons mis en place des réunions pluridisciplinaires avec des métaboliciens, généticiens et notre équipe de biologie moléculaire afin de :

- Mieux cibler les demandes et mieux définir les informations complémentaires cliniques ou biologiques dont nous avons besoin avant de nous lancer, et cela pour augmenter les chances d'aboutir à un résultat.

- Améliorer le rendu des résultats, parfois difficiles d'interprétation dans le cas de nouveaux variants, en y associant l'ensemble des démarches nécessaires (demander l'étude des frères et sœurs sains par exemple) à l'affirmation du caractère pathogène ou non des variants retrouvés.

- Mettre en garde contre d'éventuelles situations dans lesquelles la réalisation d'un DPN (Diagnostic Prénatal) avec les données dont nous disposons serait hasardeuse.

Conclusion

Il existe deux approches différentes à l'utilisation du NGS :

- Le séquençage de panels de gènes ciblés et désignés par nos soins en fonction des pathologies que l'on souhaite étudier, stratégie ici présentée et utilisée à l'heure actuelle dans notre laboratoire.

- Le séquençage non ciblé de tout ou partie du génome (exemple de l'exome qui vise à séquencer la totalité des exons du génome), tout en ciblant l'analyse bioinformatique uniquement sur nos gènes d'intérêt. Cette approche nous permettrait de revenir sur l'analyse bioinformatique à posteriori en cas de découverte de nouveaux gènes, la génétique étant en constante évolution.

Du fait de notre choix de travailler par panel de gènes ciblés, la découverte régulière de nouvelles mutations ou de nouveaux gènes nous obligent sans cesse à modifier le design des bibliothèques. Nous devons donc réanalyser les anciens dossiers non résolus à ce jour, et ce, à chaque mise à jour de notre panel. Nous augmentons donc régulièrement le nombre de gènes analysés. Cette mise à jour se fait après concertation avec d'autres centres travaillant sur ces maladies afin d'éviter une redondance, pour ajouter des gènes non étudiés en France ou pour augmenter l'expertise du laboratoire par rapport aux pathologies diagnostiquées à ce jour.

La technique de séquençage selon la méthode de Sanger ne sera malgré tout pas abandonnée, puisqu'elle reste utilisée pour l'étude de la ségrégation des mutations chez les parents, dans le cas d'étude familiale et pour les DPN.

Avis de Mireille Nicolas, TLM, ayant travaillé dans les différents secteurs du laboratoire de biochimie

« L'apprentissage de toute nouvelle technique, quel que soit le domaine d'expertise biologique, demande une remise en question de ses capacités intellectuelles et techniques. Je ne vois pas de différence entre les différents secteurs de notre service, tous participant au diagnostic biologique du patient. Le Diplôme Universitaire de Biologie Moléculaire que j'ai passé, m'a grandement aidé, lors de mon implication dans cette spécialité. Il m'a donné les bases suffisantes pour m'adapter facilement, du séquençage selon la méthode de Sanger au NGS.

Si je devais définir le temps que je consacre aux différentes étapes du NGS, je dirais : 20% de technique manuelle et 80% de bioinformatique.

Je réalise le NGS et analyse les résultats tout en bénéficiant de l'expertise professionnelle d'une ingénieure et de deux biologistes.

Je pense que les conditions indispensables sont : une grande curiosité tant au niveau technique que

(Suite page 32)

Le NGS, une aide au diagnostic des maladies métaboliques rares (suite)

bio-informatique. Il faut savoir utiliser les bases de données bioinformatiques, travailler en équipe et échanger, connaître ses limites et savoir demander de l'aide le cas échéant.

De nouveaux variants étant mis en évidence régulièrement, j'ai toujours l'impression de découvrir et d'avancer au niveau professionnel et personnel, tout en m'appuyant en tant que technicienne sur une équipe multidisciplinaire. »

Rappels

- **Les gènes** sont composés d'exons et d'introns.
- **Les exons** sont les parties qui seront traduites en protéines. Cependant tous les exons ne le sont pas, on parle dans ce cas d'exon non codant.
- **Les introns** se situant entre 2 exons, ils seront éliminés lors de la transcription. Cette étape s'appelle l'épissage.
- **L'épissage** correspond à la suppression des introns lors de la transcription, car seul (en temps normal) les exons codants seront traduits en protéine.
- **Un variant** est une base ou un acide aminé qui diffère de la séquence de référence. Dans la population générale ces variants existent à une fréquence > 1% et ne génèrent pas spécialement de pathologie. On les appelle également des polymorphismes.
- **La bibliothèque ou library** (terme plus utilisé) correspond aux « sondes » qui vont se fixer au niveau de nos régions d'intérêt. On peut parler également de library ou bibliothèque lorsque l'on parle de toute la préparation des ADN des patients avant le passage sur le NGS.
- **Indexation des patients** : étape qui consiste à ajouter à chaque patient une ou 2 petite(s) séquence(s) de 6 à 8 bases qui lui sera spécifique. Ces séquences lors de l'analyse bio-informatique permettent d'attribuer la bonne séquence au bon patient (exemple ci-dessous).

Patient	Index 1 (P7)	séquence index 1	Index 2 (P5)	Séquence index 2
75171	i1	TAAGGCGA	i13	TAGATCGC
77434	i2	CGTACTAG	i13	TAGATCGC
89925	i3	AGGCAGAA	i13	TAGATCGC
90477	i4	TCCTGAGC	i13	TAGATCGC

Figure 9 : Exemple d'indexation de patients

- **read1** : dans notre cas les 151 premiers cycles sur le NGS
- **read2** : les 151 derniers cycles sur le NGS.
- **in silico** : étude bio-informatique de la prédiction de l'impact d'un variant sur une protéine.
- **design** : détermination des coordonnées génomiques d'intérêt.

Biologie médicale en milieu rural : un secteur en pleine mutation

Florent ROUX

TLM, laboratoire OXYLAB, Brioude
Contact : florent.roux43@gmail.com

OXYLAB, filiale de LABOSUD, est un laboratoire né en 2015 du regroupement de 9 laboratoires privés du centre de la France. Il emploie près de 120 personnes dont 14 biologistes et une soixantaine de techniciens de laboratoire médical. Les analyses sont actuellement réalisées sur 4 sites (Brioude, Saint Flour, Mende et Marvejols). Un projet de nouvelle organisation a été proposé aux salariés, visant à créer un plateau technique de routine associé à deux sites à réponses rapides et de 6 sites péri analytiques. Un grand changement des pratiques professionnelles en biologie médicale est en marche.

Summary

Oxylab which affiliates to Labosud has 4 analytical sites in the center of France. The 15189 standard forces the labs to restructure and to group together. A new organization project was proposed to the employees in order to create only one centralized technical platform associated to emergency response laboratories. Florent Roux is optimistic about our job which is in full evolution.

Depuis maintenant de nombreuses années, l'activité des laboratoires de Biologie Médicale est régie par une norme européenne, NF EN ISO 15189, avec obligation d'accréditation totale de toutes les analyses de biologie médicale à l'horizon 2020. Cette norme, entre autres exigences, contraint tous les laboratoires dont nos structures en milieu rural à se regrouper pour constituer de plus grosses entités, centrées sur des plateaux techniques de haute performance.

La mutualisation des investissements, la suppression des redondances d'analyses, sont à la fois génératrices d'économies et facilitent l'obtention du fameux sésame



normatif. Le phénomène est inéluctable et n'épargne aucune région ou territoire. Quand des laboratoires proches géographiquement se regroupent, l'impact sur l'organisation du laboratoire semble plus facile, mais que se passe-t-il lorsque les sites sont plus éloignés ?

A titre d'exemple, notre laboratoire Oxylab est le fruit de la fusion de 9 sites basés sur 4 départements (Cantal, Haute-Loire, Lozère et Puy de Dôme), fusion provoquée par les mêmes causes et pour les mêmes raisons énoncées plus haut et qui font que le paysage français de la biologie médicale est passé de plus de 4000 laboratoires à moins de 750 actuellement (et ce n'est pas fini !). Assuré du soutien de la structure LABOSUD, dont il est une filiale depuis 2015, le laboratoire dispose jusqu'à présent de 4 sites analytiques et 5 sites péri analytiques. Oxylab est situé au cœur du Massif Central, région avec une densité de population assez faible. Cette structure réunifiée traite environ 1500 dossiers/jour. Elle est aujourd'hui en pleine phase de mutation.

Accréditation, investissements

Historiquement, chaque site était un laboratoire à part entière qui offrait un service de proximité auprès de la patientèle et une garantie de rendu de résultat dans les plus brefs délais, centré sur des analyses simples. Le regroupement des 9 laboratoires en une seule entité

s'impose, pour des raisons conjointes d'homogénéité des pratiques accréditables, de rationalisation des coûts, (en raison de la baisse constante depuis près de 10 ans de la cotation des analyses à la nomenclature), d'acquisition de matériel toujours plus performant... mais plus onéreux, de désertification médicale... La construction d'un plateau technique centralisé est nécessaire pour offrir un panel d'actes réalisables plus important d'ici fin 2018, tout en conservant des sites à réponse rapide, dédiés à l'urgence. Un des directeurs de la structure déclare ainsi que c'est un « mal » pour un bien, qu'une biologie indépendante et de qualité ne peut perdurer que si elle est organisée localement, régionalement, voire nationalement.

Et le patient dans tout ça ?

Vous allez dire que d'après ce que vous venez de lire, tout va pour le mieux dans le meilleur des mondes. Ce n'est pas forcément le cas, car comme il a été dit plus haut, le laboratoire couvre une très grande zone géographique. Et avec cette future organisation, le site le plus éloigné sera à 1h30 du plateau technique.

Tout doit être pensé en amont, afin de garantir la valeur que l'on peut accorder au résultat rendu. Il faut impérativement :

- **Une logistique adaptée** : fréquence des navettes inter-sites, véhicules adaptés et équipés de façon à respecter les conditions pré-analytiques des échantillons transportés (température...). L'objectif étant toujours un rendu de résultats rapide et cohérent avec la pathologie du patient,

- **Une organisation pensée** pour satisfaire l'attente des prescripteurs, des soignants, des patients aussi qui ont pris l'habitude de récupérer leurs résultats d'analyses le soir même de leur prélèvement au laboratoire ou de les recevoir le lendemain dans leur boîte aux lettres (l'utilisation de l'internet n'est pas encore dans nos régions ni le fait de tous, ni accessibles à tous). Il faut aussi transformer certains sites techniques en sites à réponses rapides dédiés à l'urgence.

Qualité, fiabilité et rapidité de rendu des résultats sont aujourd'hui garantis dans notre laboratoire et tout sera mis en œuvre pour conserver à l'avenir, par la politique que le laboratoire met en place, ces mêmes critères de résultats.

(Suite page 34)

Biologie médicale en milieu rural : un secteur en pleine mutation (suite)

Quid des employés ?

Du point de vue des ressources humaines, que peut-on dire ? La réorganisation à venir, avec un plateau centralisé, plus automatisé, et plus moderne oblige forcément à repenser notre métier de TLM et les rôles de chacun sur « son » site. Tout ceci peut être source d'inquiétude et de stress, bien compréhensibles, pour l'ensemble des acteurs. Les questions fusent : que va-t-on devenir ? Irons-nous travailler sur le plateau technique ? Cela sera-t-il compatible avec ma vie de famille actuelle ?... Et l'automatisation ? On parle de chaînes analytiques ! Le technicien va-t-il redevenir un simple poseur de tubes dans les automates ? Face à ces angoisses, la direction a une obligation de réponses et de propositions. La communication et la concertation sont prépondérantes. Pour reprendre le cas de notre laboratoire, la direction s'est engagée à conserver l'ensemble des sites et du personnel existants. Des formations complémentaires, dans des secteurs d'activité à développer ou à réinternaliser sont proposées (communication, logistique, métrologie, informatique, assurance qualité, formateur interne, auditeur interne...).

La politique de l'entreprise vise avant tout à présenter un projet global, des axes d'orientation professionnelle à l'ensemble des employés, au plus vite, pour que chacun prenne le temps de la réflexion nécessaire à sa compréhension et puisse y adhérer pleinement. Chacun doit pouvoir trouver sa place au sein de cette nouvelle organisation. Il suffit simplement d'y mettre les moyens et un peu de bonne volonté. Le projet finalisé est à échéance de juin 2018, soit plus de 15 mois à la date d'aujourd'hui, mais c'est pourtant dès à présent que le projet professionnel de chacun doit pouvoir se construire.

La plupart des techniciens font ce métier par vocation, par intérêt voire par passion, avec un désir de se sentir utile à la démarche diagnostique ou de suivre des patients. La plupart des TLM déplorent la perte de ce côté « familial » que l'on pouvait avoir dans une petite structure rurale. L'évolution du métier de technicien vers des fonctions annexes dans une entité grossissante vise à pousser le personnel à s'ouvrir à de nouveaux horizons qui sont jusqu'alors restés inexploités voire jugés inintéressants dans le cadre de la biologie médicale « de l'époque ».

Vers quel avenir ?

La biologie en milieu rural a son cœur en balance. Désireuse d'évoluer d'une part, car consciente que si elle ne fait rien, elle restera sur le quai de la gare ; mais contrainte ou freinée d'autre part, par peur d'un changement pourtant indispensable. La solution développée dans cet article est selon l'équipe directrice, la seule pérenne et capable d'assurer une prise en charge rapide du patient, de gérer les échéances du COFRAC dans des conditions supportables, de garantir les emplois, et de ne pas succomber aux chants des sirènes d'investisseurs financiers qui sont aux portes de l'entreprise. La filialisation avec le groupe LABOSUD va permettre à Oxylab de garder son indépendance et de traiter en interne l'essentiel des analyses prescrites, même spécialisées (à plus de 95% grâce au développement dans la structure de laboratoires spécialisés) et ainsi se détacher des laboratoires aux mains de grands groupes financiers.

Conclusion

La biologie en milieu rural ou semi-rural est soumise aux mêmes contraintes d'accréditation, de coût et d'évolution que partout ailleurs en France. Elle a donc la même nécessité de concentration des moyens analytiques pour continuer à assurer une prestation de qualité et à bénéficier des évolutions technologiques.

De plus, elle doit conserver un rôle social considérable : assurer la continuité des soins, éviter l'apparition de zones de non soins. Et ceci, en tenant compte des distances kilométriques importantes entre les différents points de collectes, des contraintes climatiques aiguës et d'une désertification médicale inéluctable. Si enfin, elle veut avoir accès aux nouveaux moyens diagnostiques qui seront bientôt disponibles (génomique, génétique prédictive, bio pathologie...), elle doit s'assurer de partenariats fiables avec des acteurs qui ont la même vision d'une biologie structurée, indépendante des réseaux financiers.

La bonne question à se poser alors est sans aucun doute : et si mon laboratoire n'avait pas, dès aujourd'hui évolué pour préparer sa mutation, que serais-je devenu ? Mon laboratoire ou mon site serait-il encore là ? Je crois bien que chacun connaît la réponse !

Et pour terminer sur une note optimiste, disons qu'il y a deux façons de voir le changement : le subir ou le considérer comme une opportunité. C'est vers cette dernière option que nous nous tournons résolument. ■

Les avantages à être adhérent AFTLM

- 1- Bénéficier d'une protection juridique par la MACSF dans le cadre de son activité professionnelle.
- 2- Profiter de tarifs préférentiels pour participer aux Journées Professionnelles (JP) de formation et d'information, dans le cadre du DPC.
- 3- Bénéficier d'échanges enrichissants avec des professionnels de disciplines et d'horizons multiples.
- 4- Participer activement à l'évolution du métier de technicien de laboratoire médical.
- 5- Recevoir le Techlabo.com à votre domicile.

Par l'adhésion de l'AFTLM à l'UIPARM (Union InterProfessionnelle des Associations de Rééducateurs et Médicotechniques) et à l'EPBS (European association for Professionals in Biomedical Science), vous soutenez l'interprofessionnalité paramédicale nationale et l'organisation de la profession à l'échelle européenne.



BULLETIN D'ADHESION

Adhésion fixée à 25 euros payable par chèque libellé à l'ordre d'AFTLM et envoyé à la trésorière
Claire FERLET - 9 Bis rue de Magdebourg - 75116 Paris
(Adhésion pour une année à partir de la date du chèque)

NOM : Prénom :

Date de naissance :

Adresse :

.....

Code postal : Ville :

Téléphone mobile : E-mail* :

Grade : Discipline :

Public Privé

*écrire très lisiblement

Renouvellement adhésion : oui non



XIV^{ème} Journée Professionnelle de l'Association Française des Techniciens de Laboratoire Médical

Vendredi 17 Novembre 2017

Technicien de laboratoire médical... ... le risque maîtrisé

Conservatoire national des arts et métiers - 292, rue Saint Martin - 75003 PARIS

Matin

08h00 - 08h45 : Accueil des participants

09h00 : Ouverture de la journée

Pierre DUCELLIER, Président de l'AFTLM

Technicien de laboratoire médical...

... le risque maîtrisé

09h15 : Gestion du processus préanalytique (DPC)

*Güler AYDIN, Responsable Assurance Qualité,
Hôpital Cochin, Paris*

10h00 : Processus préanalytique : Quelles actions pour
une amélioration continue de la qualité ? (DPC)

*Virginie GABA, Cadre supérieur de santé, Responsable qualité,
gestion des risques, Hôpital Necker - Enfants malades, Paris*

10h45 : Pause

11h00 : Principaux risques à gérer en bactériologie :
Retour d'expérience d'un auditeur COFRAC

Luc ESSEMILAIRE, Biologiste, auditeur COFRAC

11h45 : Le prélèvement : une relation humaine

*Mario CANALE, Technicien de laboratoire médical,
Hôpital Saint Joseph, Paris*

Après-midi

12h30 : Pause déjeuner

14h00 : Recherche des particules exogènes dans un
contexte d'anthropologie médico-légale

*Catherine CANNET, Technicienne de laboratoire médical,
chargée du laboratoire d'histomorphométrie en institut médico
légal, Strasbourg*

14h45 : Technicien de laboratoire médical en recherche

*Johnny BLOMBLED, Cadre médicotecnique en R&D,
Gustave Roussy Cancer Campus, Villejuif*

15h30 : Territoires et biologie

*Eric ROUSSEL, Directeur de la stratégie et des affaires médicales,
Hôpitaux Universitaires Pitié-Salpêtrière / Charles Foix, Paris*

16h15 : Actualités professionnelles

*Pierre DUCELLIER, Président de l'AFTLM
Evelyne PSALTOPOULOS et Edwige CAROFF,
vice-présidentes de l'AFTLM
Myriam DELVIGNE, Présidente du CNPTLM*

16h30 : Résultats du concours photo

AFTLM 2017 «L'art au laboratoire»

16h45 : Clôture de la journée

Nouveauté : l'inscription à la journée professionnelle 2017 inclut la participation gratuite à 2 ateliers DPC
(informations sur le site : www.aftlm.fr)

Association Française des Techniciens de Laboratoire Médical • c/o Pierre DUCELLIER - 67, rue de Conflans - 95220 HERBLAY
Tel : +33 (0)1 44 12 67 67 - www.aftlm.fr - 