



Document vérifié par C. Hans et B. Pichon

## Table des matières

|   |    |
|---|----|
| 1. Objet.....   | 2  |
| 2. Domaine d'application.....   | 2  |
| 3. Définitions .....  | 2  |
| 4. Informations administratives .....   | 2  |
| 5. Les demandes d'analyse .....   | 3  |
| 6. Les prélèvements .....   | 4  |
| 6.1. Réalisation des prélèvements.....  | 4  |
| 6.2. Sécurité .....   | 4  |
| 6.3. Identification des prélèvements .....  | 4  |
| 6.4. Type / Conditionnement / Quantité requise et Conditions d'acheminement des<br>prélèvements pour la biologie moléculaire (analyses sur ADN) et pour la cytogénétique<br>(analyses de FISH et caryotype) ..... | 4  |
| 6.5. Séparation et aliquotage de l'échantillon primaire .....   | 6  |
| 6.6. Cas particulier des acides nucléiques extraits ou cellules conditionnées préalablement par<br>d'autres laboratoires .....  | 6  |
| 6.7. Stockage des échantillons et délai pour ajout analyse supplémentaire .....   | 7  |
| 6.7.1. Dans le laboratoire de Génétique Moléculaire Hériditaire .....   | 7  |
| 6.7.2. Dans le laboratoire de Cytogénétique .....   | 7  |
| 7. Les analyses .....   | 8  |
| 7.1. Réalisation des analyses.....  | 8  |
| 7.2. Documents particuliers.....  | 8  |
| 7.3. Répétition des analyses en cas de défaillance technique.....   | 9  |
| 7.4. Délai de réponse.....  | 9  |
| 8. Le compendium des analyses de Biologie Clinique .....  | 9  |
| 8.1. Accessibilité et recherche d'information.....  | 9  |
| 8.2. Contenu .....  | 9  |
| 9. Modifications par rapport à la version précédente .....  | 10 |



## 1. Objet

Le manuel de prélèvement des échantillons primaires contient toutes les instructions relatives aux traitements des échantillons primaires (prélèvements).

## 2. Domaine d'application

Ce manuel est un document mis à la disposition des fournisseurs de prélèvements du Laboratoire de Génétique (prescripteurs, infirmières du prélèvement, ...) dans le but de fournir les informations précises concernant les processus pré-analytiques et ainsi d'obtenir les prélèvements dans des conditions optimales.

Ce manuel concerne les prélèvements destinés à l'un des secteurs suivants du laboratoire de génétique de l'HUB (hôpital Erasme) :

- **Secteur de génétique moléculaire héréditaire (ci-dessous appelé "Here")** : analyses principalement sur ADN réalisées dans le cadre de pathologies constitutionnelles héréditaires (recherche d'anomalies génétiques dans le cadre de mise au point de pathologies génétiques neurologiques ou autres, de dépistage pré-conceptionnel et anténatal, de thrombophilie, de cancer héréditaire, etc)
- **Secteur de cytogénétique constitutionnelle (ci-dessous appelé "Cyto")**: analyses chromosomiques (caryotype, FISH) et génétiques (CGH array, QF PCR, SNP array, séquençage Long Read) réalisées dans le cadre de pathologies constitutionnelles (mise au point de syndromes malformatifs, de dysmorphisme, de trouble de la croissance, de retard mental, de troubles autistiques, etc), préconceptionnelles (FIV, infertilité, antécédents de fausses couches à répétition, etc), prénatale (anomalies échographiques, fausses couches/MFIU, confirmation de NIPT, etc) et préimplantatoire (PGT-M, PGT-SR, PGT-A).

Un résumé des différents secteurs et des informations-clefs (types de pathologies qu'ils prennent en charge, types d'échantillons à envoyer, contacts, liens vers sites web) est repris dans **PRA\_SPEC\_002**.

## 3. Définitions

### Prélèvement

Matériel humain destiné à l'examen génétique (génétique moléculaire héréditaire, cytogénétique).

### Compendium des analyses

Base de données informatique reprenant entre autres, pour chaque analyse, les instructions spécifiques relatives au prélèvement et à la manipulation des échantillons primaires, ainsi que les informations concernant les analyses (délai de réponse, etc).

## 4. Informations administratives

Afin de faciliter l'identification des prélèvements destinés au Laboratoire de Génétique par le centre de tri, des étiquettes colorées autocollantes sont distribuées aux différents fournisseurs de prélèvements (Cf **PRA\_SPEC\_023**).

Ces étiquettes reprennent l'adresse du laboratoire, le lien internet vers le Compendium des analyses, les numéros de téléphone de contact et les principales conditions de conservation et de transport des prélèvements, et sont à coller sur les enveloppes contenant les prélèvements nous étant destinés.

Ces étiquettes sont disponibles sur demande au secrétariat.



Tel : 32 (0)2 555.41.45  
Fax : 32 (0)2 555.42.12

Le laboratoire est ouvert tous les jours ouvrables, sans garde de nuit.

**Adresse du laboratoire (pour envoi des échantillons) :**

Laboratoire de génétique de l'hôpital Erasme (HUB)  
808, route de Lennik  
1070 Bruxelles

## 5. Les demandes d'analyse

- Les feuilles de prescription pour une analyse destinée au Laboratoire de Génétique, secteurs Cytogénétique constitutionnelle et Génétique Moléculaire héréditaire sont disponibles sur le site internet du laboratoire de génétique : <http://www.ulbgenetics.be>:
  1. Demandes pour la génétique Prénatale
  2. Demande pour la Gynécologie et infertilité
  3. Demande pour la Génétique héréditaire et Pharmacogénétique
  4. Demande pour Oncogénétique
  5. Demande pour Neurogénétique
  6. Demande pour Démence
  7. Demande pour Tests omiques
  8. Demande pour Verneuil
  9. Demande pour une analyse destinée au Laboratoire de Génétique Moléculaire, secteur héréditaire (NIPT) (tube STRECK) FR
  10. Demande pour une analyse destinée au Laboratoire de Génétique Moléculaire, secteur héréditaire (NIPT) (tube STRECK) NL
  11. Demande pour une analyse destinée au Laboratoire de Génétique Moléculaire, secteur héréditaire (NIPT) (tube STRECK) EN

Néanmoins n'importe quel type de document de demande peut être associé au prélèvement, pour autant qu'il comporte toutes les informations mentionnées ci-dessous.

Une fois remplie par les prescripteurs, la demande doit contenir les renseignements suivants :

- identification du patient
- identification du prescripteur
- identification du préleveur (doit au moins pouvoir être transmise sur demande)
- nature du prélèvement



- date du prélèvement (l'heure de prélèvement n'est pas une donnée critique pour la réalisation des analyses du laboratoire de Génétique, mais elle doit néanmoins pouvoir être transmise sur la demande)
- analyse demandée et/ou renseignements cliniques.

Dans le cadre d'un panel de gènes (**EXOME**), les prélèvements des patients en « trio » (parents et enfant) accompagnés d'une demande par patient seront en général nécessaires à une analyse puissante et pertinente des résultats. Les consentements signés devront par ailleurs accompagner ces prélèvements (disponibles directement sur les demandes).

Les renseignements cliniques et/ou paracliniques sont indispensables, en particulier en cas d'analyse dont le remboursement dépend du diagnostic clinique et/ou du résultat d'autres examens :

- les analyses dont le remboursement dépend de l'article 33 du Chapitre VII de la nomenclature INAMI (analyses moléculaires et cytogénétiques, à l'exception de celles mentionnées spécifiquement dans l'article 33bis, cfr [http://www.inami.fgov.be/fr/nomenclature/nomenclature/Pages/default.aspx#Chapitre\\_VII\\_-\\_Anatomo-pathologie\\_et\\_examens\\_génétiques](http://www.inami.fgov.be/fr/nomenclature/nomenclature/Pages/default.aspx#Chapitre_VII_-_Anatomo-pathologie_et_examens_génétiques) doivent être prescrites par un généticien, qui vérifiera donc les demandes et annulera ou adaptera les analyses selon les informations complémentaires.

## 6. Les prélèvements

### 6.1. Réalisation des prélèvements

Pour les modalités de prélèvements à proprement parler (préparation du patient, type d'aiguille, élimination des déchets, etc), nous vous renvoyons vers les procédures en vigueur dans le centre/laboratoire/service réalisant le prélèvement.

Le prélèvement doit toujours être réalisé dans des conditions stériles.

Les types de prélèvements, le conditionnement requis et les quantités nécessaires pour le laboratoire de génétique sont repris au point 6.4.

### 6.2. Sécurité

Les prélèvements doivent être emballés de façon adéquate afin de protéger le transporteur et la personne réceptionnant l'échantillon de tout risque de contamination.

### 6.3. Identification des prélèvements

Le prélèvement doit être identifié clairement

- \* nom du patient et/ou numéro de référence de la demande
- \* numérotation individuelle en cas de prélèvements multiples

### 6.4. Type / Conditionnement / Quantité requise et Conditions d'acheminement des prélèvements pour la biologie moléculaire (analyses sur ADN) et pour la cytogénétique (analyses de FISH et caryotype)

Ces critères sont repris dans le Compendium des analyses (voir point 8), analyse par analyse.



Les prélèvements doivent nous parvenir **avant 16H (avant 15H le vendredi ou la veille d'un jour férié)**.

Pour les cas particuliers, voir le doc **PRA\_DX\_004 Prélèvements : Jour de prélèvements autorisé**.

Nous vous suggérons de prévenir le laboratoire de l'envoi de tout échantillon précieux.

Les prélèvements qui ne répondent pas aux indications reprises ci-dessous sont considérés comme non conformes (cfr **SPEC Gestion des prélèvements non conformes PRA\_SPEC\_007**). La gestion de ces prélèvements est bien sûr différente selon que le problème est bloquant ou pas pour le traitement de l'échantillon et/ou la réalisation de l'analyse. Le type de problème rencontré sera indiqué dans le système informatique du laboratoire, et, si nécessaire, sera mentionné sur le compte-rendu envoyé au médecin.

Les risques et l'impact sur la prise en charge du patient en cas d'acceptation/ refus d'un échantillon non-conforme sont décrits dans la **PRA\_SPEC\_007**.

| Type (3)   | Conditionnement  | Quantité requise   | Température (2)       | Délai d'arrivée au laboratoire   |
|--|--|--|-----------------------|--|
| sang   | EDTA (1)   | Adulte : idéalement 10ml<br>Enfant : idéalement 2ml  | /                     | si possible dans les trois jours suivant la réalisation du prélèvement (5)               |
| sang   | HEPARINE<br>[héparinate de sodium NAH]   | Adulte : idéalement 5ml<br>Bébé : idéalement 0,5ml   | NE JAMAIS<br>CONGELER | au plus tard le 3 <sup>ème</sup> jour suivant la réalisation du prélèvement              |
| sang foetal  | EDTA   | Fœtal : minimum 0.6 ml   | /                     | le jour même (au plus tard le lendemain du jour du prélèvement)                          |
| sang foetal  | HEPARINE<br>[héparinate de sodium NAH]   | Fœtal : 0.6ml  | NE JAMAIS<br>CONGELER | le jour même (au plus tard le lendemain du jour du prélèvement)                          |
| Prélèvement foetal non invasif (NIPT)                          | STRECK   | 1X 10 ml (minimum 8 ml)  | NE JAMAIS<br>CONGELER | Le jour même, à température ambiante (au plus tard 96 heures après le prélèvement à 4°C) |
| villosités trophoblastiques (CVS)                              | dans un pot milieu de transport stérile contenant du milieu de culture BME (4)   | le maximum possible (minimum 10mg)   | NE JAMAIS<br>CONGELER | le jour même (au plus tard le lendemain du jour du prélèvement)                          |
| liquide amniotique (LA)  | prélevé dans un flasque T25 stérile  | minimum 20 ml  | NE JAMAIS<br>CONGELER | le jour même (au plus tard le lendemain du jour du prélèvement)                          |
| peau   | fragment/punch à vif immergé dans un pot milieu de transport stérile contenant du milieu de culture BME (1)                                  | fragment/punch de 1mm <sup>2</sup>   | NE JAMAIS<br>CONGELER | le jour même (au plus tard le lendemain du jour du prélèvement)                          |
| produit de fausse couche ou interruption médicale de grossesse | prélèvement stérile (peau, cordon, villosité, autre) à placer dans un pot milieu de transport stérile contenant du milieu de culture BME (1) | - le maximum possible d'un type de tissu<br>- privilégier les biopsies fœtales ou sang foetal sur EDTA aux biopsies placentaires<br>- éviter le cordon | NE JAMAIS<br>CONGELER | au plus tard le 3 <sup>ème</sup> jour suivant la réalisation du prélèvement              |
| Prélèvement sanguin pour CGH array                             | sang sur EDTA  | EDTA<br>Adulte : idéalement 5ml<br>Bébé : idéalement 0,5ml   | NE JAMAIS<br>CONGELER | au plus tard le 3 <sup>ème</sup> jour suivant la réalisation du prélèvement              |



|                                     |  |                |                                 |  |
|-------------------------------------|--|----------------|---------------------------------|--|
| Prélèvement sanguin pour lignée EBV | sang sur HEPARINE [héparinate de sodium NAH]   | idéalement 5ml | T° ambiante, NE JAMAIS CONGELER | au plus tard le deuxième jour suivant la réalisation du prélèvement, et pas le vendredi ni le week-end |
| frottis jugal                       | TOUJOURS CONTACTER LE LABORATOIRE AU PREALABLE |                |                                 |  |
| ADN                                 | tel quel                                       | à discuter     | /                               | si possible dans les trois jours suivant l'envoi   |

**(1) Conditionnement, exceptions :**

- Tube sec (non congelé) pour préparation cumulée d'ADN et de sérum dans le cadre des immunodéficiences
- Tube avec gel séparateur (non congelé) pour diagnostic de sexe fœtal et de rhésus fœtal sur sang maternel

**(2) Température :** en règle générale, éviter les températures extrêmes (à l'abri du gel et des sources directes de chaleur comme l'exposition directe au soleil)

Les prélèvements destinés au secteur de cytogénétique ne peuvent PAS être congelés. Ils doivent être conservés à TEMPERATURE AMBIANTE et acheminés le plus rapidement possible au laboratoire

**(3) Pour tout type de prélèvement non repris dans ce tableau, contacter le laboratoire**

**(4) Les pots de milieu de transport stériles contenant du milieu de culture BME SANS héparine sont disponibles sur demande au laboratoire de cytogénétique**

**(5) Le délai d'acheminement des prélèvements destinés au secteur HERE a peu d'impact sur la possibilité d'obtenir un résultat de bonne qualité, sauf quand il s'agit d'un diagnostic prénatal.**

## 6.5. Séparation et aliquotage de l'échantillon primaire

### 6.5.1. Dans le laboratoire de Génétique Moléculaire Hériditaire

Le laboratoire n'aliquote pas les échantillons primaires sauf pour les sangs destinés à l'analyse de long reads : 4 aliquots de 500 µL minimum (en fonction de la quantité de sang) sont réalisés dans des tubes Eppendorf safe lock de 2 ml.

### 6.5.2. Dans le laboratoire de Cytogénétique

Tous les aliquots réalisés avec les prélèvements de cytogénétique ainsi que leurs noms et modes de conservation sont décrits dans les PSOT de conditionnement : PRA\_PSOT\_013, PRA\_PSOT\_014, PRA\_PSOT\_015, PRA\_PSOT\_016 et PRA\_PSOT\_017.

## 6.6. Cas particulier des acides nucléiques extraits ou cellules conditionnées préalablement par d'autres laboratoires

Certaines analyses sont réalisées sur des acides nucléiques déjà extraits (ADNg ou ADNc) ou sur des cellules conditionnées préalablement (cellules dans le trizol ou cellules CD3+ triées par exemple) par d'autres laboratoires avant de nous être envoyés, dans le cadre d'analyses qui nous sont sous-traitées.



Dans ces cas, le laboratoire de génétique n'est pas responsable de la vérification de la conformité du prélèvement primaire ni de la demande d'analyse originale, qui incombe au laboratoire d'origine (identification du prélèvement primaire, adéquation du conditionnement et de l'acheminement du prélèvement primaire, etc). C'est également le laboratoire d'origine qui se charge d'envoyer le prélèvement dans les conditions adéquates (si nécessaire après contact avec le laboratoire de génétique).

Le laboratoire de génétique est par contre en charge de vérifier la conformité des événements entre l'envoi de l'échantillon par le laboratoire initial et la réception de l'échantillon.

## 6.7. Stockage des échantillons et délai pour ajout analyse supplémentaire

### 6.7.1. Dans le laboratoire de Génétique Moléculaire Hériditaire

Le laboratoire stocke temporairement à -20°C les prélèvements de sang, à 4°C les ADN extraits à partir des prélèvements primaires, à -80°C les sangs destinés à l'analyse de long reads ainsi que les ARN extraits à partir des prélèvements primaires, au minimum 3 mois après la clôture du dossier (voire plus selon les cas, en particulier pour des pathologies héréditaires).

Il sera donc possible, endéans ce délai (voire même beaucoup plus longtemps), de discuter avec un des responsables du laboratoire de l'opportunité de réaliser l'une ou l'autre analyse qui n'aurait pas été programmée initialement, à condition que l'acide nucléique adéquat ait pu en être extrait.

Pour l'analyse du séquençage long reads, le sang EDTA doit être stocké le plus rapidement possible (dès sa réception) à -80°C, si cela n'est pas demandé initialement, cette analyse ne sera pas réalisable.

### 6.7.2. Dans le laboratoire de Cytogénétique

Les **sangs** sur héparine sont conservés deux mois : la mise en culture est faite dans les 5 jours qui suivent le prélèvement. Au-delà une culture n'est plus possible, seule une analyse FISH frottis pourra être réalisée sur le tube de sang héparine conservé.

Le culot cellulaire post-culture est conservé environ 1 an. Durant cette période, un caryotype et une analyse Fish sont réalisables sur les culots cellulaires fixés. La qualité des analyses peut être diminuée avec le temps.

Les **lignées lymphoblastoïdes** et cultures de fibroblastes sont stockées indéfiniment en azote (-196°C) et sont disponibles pour diverses analyses après une remise en culture.

Pour les ponctions de **liquides amniotiques**, sont conservé à -20°C : du surnageant et 2ml de liquide non cultivé (si quantité de départ suffisante). Ces échantillons sont disponibles pour d'autres analyses sur demande. Ils sont conservés le temps de la grossesse.

Une fois l'analyse terminée, un culot cellulaire est conservé à 20°C (le temps de la grossesse). En cas d'anomalies échographiques, une extraction d'ADN est réalisée sur les cultures de liquides amniotiques ADN sont conservés à 4°C selon les modalités de conservation d'ADN de la génétique moléculaire.

Pour les **villosités chorales**, une fois l'analyse terminée, un culot cellulaire est conservé à 20°C (le temps de la grossesse). En cas d'anomalies échographiques, une extraction d'ADN est réalisée sur les cultures de liquides amniotiques ADN sont conservés à 4°C selon les modalités de conservation d'ADN de la génétique moléculaire.

Les **fausses-couches** un aliquot du prélèvement primaire est conservé à -20°C durant minimum 3 mois. Une extraction d'ADN est réalisée et cet ADN est conservé à 4°C selon les modalités de conservation d'ADN de la génétique moléculaire.





## 7. Les analyses

### 7.1. Réalisation des analyses

Les indications-clefs des analyses sont reprises dans le compendium des analyses (voir point 8). Ces indications ne sont pas exhaustives et le choix de l'analyse à réaliser dépendra des informations cliniques et para-cliniques éventuelles.

Les analyses dont le remboursement dépend de l'article 33 du Chapitre VII de la nomenclature INAMI (cfr

[http://www.inami.fgov.be/fr/nomenclature/nomenclature/Pages/default.aspx#Chapitre\\_VII\\_-\\_Anatomo-pathologie\\_et\\_examens\\_génétiques](http://www.inami.fgov.be/fr/nomenclature/nomenclature/Pages/default.aspx#Chapitre_VII_-_Anatomo-pathologie_et_examens_génétiques)) doivent être prescrites par un généticien, qui vérifiera donc les demandes et annulera ou adaptera les analyses selon les informations complémentaires.

Les responsables du laboratoire adapteront donc le choix des analyses à réaliser selon les informations complémentaires.

Le laboratoire se tient bien entendu à la disposition du prescripteur pour toute discussion au sujet d'un patient ou d'une analyse (du matériel sera stocké temporairement par le laboratoire, même en cas d'annulation d'analyse, cfr point 6.6).

### 7.2. Documents particuliers

La réalisation de certaines analyses requiert un **formulaire de consentement complété par le patient** disponible sur le site web (<http://www.ulbgenetics.be>) :

- **FORM** PRA\_FORM\_009 Consentement éclairé en vue d'une analyse génétique
- **FORM** PRA\_FORM\_010 Geïnformeerde toestemming voor genetische analyse
- **FORM** PRA\_FORM\_011 Informed consent for a genetic analysis

Certaines analyses complexes ne pourront être réalisées que si le laboratoire a reçu le **questionnaire ad hoc complété** (<http://www.ulbgenetics.be>).

Différents feuillets d'information à l'attention des prescripteurs sont disponibles sur le site web (<http://www.ulbgenetics.be>).

Ils concernent l'analyse des chromosomes par la technique CGH array en prénatal et en postnatal, les instructions de prélèvements pour la réalisation de l'analyse par CGH array, les prédispositions génétiques au cancer du sein et/ou de l'ovaire, les informations concernant les analyses génomiques, les instructions de prélèvements pour la réalisation d'une analyse dans le cadre des hémoglobinopathies ainsi que la brochure pour le test BeGECS

**SPEC PRA\_SPEC\_002** Infos clefs à l'attention des prescripteurs

**SPEC PRA\_SPEC\_003** CGH instructions préleveurs PLA

**SPEC PRA\_SPEC\_004** CGH instructions préleveurs CVS

**SPEC PRA\_SPEC\_005** Informations CGH-array prénatal

**SPEC PRA\_SPEC\_010** Information on genome-wide genetic testing - adult

**SPEC PRA\_SPEC\_011** Information concernant les analyses génomiques - adulte

**SPEC PRA\_SPEC\_012** Information on genome-wide genetic testing - child

**SPEC PRA\_SPEC\_013** Information concernant les analyses génomiques - enfant

**SPEC PRA\_SPEC\_018** Informatie over genoomonderzoek in de genetica

**SPEC PRA\_SPEC\_019** Informatie over genetische onderzoeken bij minderjarigen

**SPEC PRA\_SPEC\_024** Hémoglobinopathies Prescriptions extérieures





**SPEC PRA\_SPEC\_025** Hemoglobinoopathieën : externe analysevoorschriften  
**SPEC PRA\_SPEC\_027** BeGECS - Brochure d'information

### 7.3. Répétition des analyses en cas de défaillance technique

En cas de défaillance technique, l'analyse sera répétée pour tenter d'obtenir un résultat interprétable.

Si le matériel est insuffisant pour refaire l'analyse, le prescripteur sera averti par compte-rendu.

L'analyse ne sera pas refaite si le résultat ne peut être donné en raison d'une dégradation de l'échantillon. Dans ce cas également, le prescripteur sera averti par compte-rendu.

### 7.4. Délai de réponse

#### 7.4.1. Délai standard

Les délais de réponse « habituels » des analyses sont repris dans le compendium des analyses.

A noter qu'il peut y avoir un délai supplémentaire entre la réception de l'échantillon et la réalisation de l'analyse. En effet, le choix de l'analyse à réaliser peut dépendre de l'obtention d'informations cliniques complémentaires ou de résultats d'autres analyses effectuées en dehors ou au sein du laboratoire.

#### 7.4.2. Urgence

Dans certaines situations, un résultat peut être nécessaire endéans un délai plus rapide que le délai habituel.

Dans ce cas, le prescripteur peut prendre contact avec un des responsables du laboratoire afin de discuter de l'opportunité et de la possibilité d'obtenir un résultat plus rapidement.

## 8. Le compendium des analyses de Biologie Clinique

### 8.1. Accessibilité et recherche d'information

Le Compendium est accessible via la page: <http://www.ulbgenetics.be>

Les informations sur les analyses peuvent être obtenues :

- En cliquant sur le nom de l'analyse

### 8.2. Contenu

Dans le compendium, pour chaque analyse, les rubriques mentionnent :

- quand prélever
- comment prélever (*types de tube*)
- combien prélever (*volume minimum à prélever*)
- quand et comment envoyer le prélèvement (*délai d'acheminement, température*)
- indications-clefs des analyses
- la fréquence d'analyse
- le délai de réponse
- la méthode d'analyse
- dans quel laboratoire l'analyse est réalisée.



Les commentaires " prélèvement " et " au clinicien " comprennent les renseignements indispensables pour la collecte et la préservation de l'échantillon jusqu'à sa réception au laboratoire.

## 9. Modifications par rapport à la version précédente

Voir trait vertical dans la marge.