

Retour sur le Challenge 180 secondes des e-posters des 3^{es} Journées francophones de biologie médicale (JFBM)

Monaco, novembre 2019

*Reports of the Match 180 seconds from the third French-speaking
Days of Medical Biology, Monaco, 2019*

Marie-Hélène Tournoy¹
Carole Poupon²
Jennifer Guillerme³
Ambroise David⁴
Célie Malaure⁴
Evelyne Heng⁵
Ani Horikian⁶
Mariem Tira⁷
Antoine Rambaud⁸
Pour l'ensemble des auteurs
de la session « Posters »
sélectionnés pour
le Challenge 180 secondes

¹ CH de Béthune, France

² CH de Gonesse, France

³ CHU de Rouen, France

⁴ CHU de Bicêtre, France

⁵ CH de Versailles, France

⁶ CHU de Besançon, France

⁷ Hôpital Charles Nicolle, Tunisie,

⁸ CHU de Nantes, France

Challenge 180 secondes

Tournoy Marie-Hélène¹, Poupon Carole²

¹ Présidente du jury de la session Posters des 3^{es} JFBM, CH de Béthune, France ; ² Présidente du comité scientifique des 3^{es} JFBM, CH de Gonesse, France

Dans le cadre des 3^{es} Journées francophones de biologie médicale, qui rassemblent les biologistes médicaux des pays francophones, hospitaliers et libéraux, plus de 90

Correspondance : M.-H. Tournoy
<mhtournoy@ch-bethune.fr>

Membres du groupe de la session « Posters » sélectionnés pour le Challenge 180 secondes : Guillaume Jennifer, Ziegler Frédéric, Guenet David, Fraissinet François, Martin Sylvie, Brunel Valery, David Ambroise, Malaure Célie, Noe Gaëlle, Verstuyft Céline, Laborde Nolwenn, Furlan Valérie, Heng Evelyne, Osman Jennifer, Terre Christine, Denoux Yves, Rigaudau Sophie, Rousselot Philippe, Maneglier Benjamin, Horikian Ani, Cypriani Benoit, Thiriez Gérard, Alturazza Cécilia, Nicolas Thierry, Bardonnat Karine, Tira Mariem, Ben Ali Imen, Ba Alif, Zribi Asma, El Elmi Alia, Chaouech Mariem, Aouini Saloua, Benhmida Fethi, Dhaouadi Tarak, Sfar Imen, Ben Abdallah Taieb, Gorgi Youssr, Rambaud Antoine, Hay-Lombardie Anne, Kamel Said, Herbretau Guillaume, Bigot-Corbel Edith

résumés et e-posters ont été affichés. Pour la deuxième année consécutive un « Challenge 180 secondes » a été organisé afin de permettre aux auteurs des meilleurs posters sélectionnés de faire une courte présentation orale.

À partir des sept thématiques représentées : Biochimie ; Biologie délocalisée et d'urgence ; Hématologie ; Immunologie et allergie ; Microbiologie ; Organisation, accréditation et assurance qualité ; Toxicologie, suivi thérapeutique, les membres du jury Posters ont sélectionné sept posters. En partenariat avec le Groupe Pasteur Mutualité, au terme des présentations orales, quatre prix ont été décernés.

Acidémie méthylmalonique : à propos d'un cas

Horikian Ani¹, Cypriani Benoit¹, Thiriez Gérard², Alturazza Cécilia², Nicolas Thierry¹, Bardonnnet Karine¹

¹ *Biochimie médicale, ² Réanimation pédiatrique-Néonatalogie-Néphrologie-Urgences médicales, CHU Jean Minjoz, Besançon, France*

Introduction

L'acidémie méthylmalonique (AMM) est d'origine génétique ou non (carence). La prévalence de la forme héréditaire de mode de transmission récessif autosomique, est de 1/480 000 à 1/61 000 naissances en Amérique du Nord. Elle est sensible ou non à la vitamine B12. Trois types d'anomalies : mut- (anomalie de la méthylmalonyl CoA mutase), cblA (défaut de réduction de la cobalamine), cblB (déficit en adénosyl transférase), sont à l'origine d'AMM sensible à la vitamine B12. Elle se caractérise par une accumulation d'acide méthylmalonique et de ses composés en amont de l'anomalie enzymatique (intoxication endogène). L'hyperammoniémie est une des graves conséquences de l'AMM (séquelles irréversibles en particulier neurologiques). Sa prise en charge est une urgence. Nous présentons un cas bien documenté d'acidémie méthylmalonique révélée au cours d'un épisode infectieux chez un enfant de 15 mois.

L'observation

L'enfant A est hospitalisé le 23 janvier 2019 en réanimation pédiatrique dans un contexte grippal (PCR positive) avec surinfection bactérienne pulmonaire, défaillance hémodynamique et coma. Il est né à terme (Apgar 10-10) d'une union apparentée. Il a trois sœurs dont l'une suivie dans une autre région, serait atteinte d'acidémie méthylmalonique étiqueté avec déficit en cobalamine A (pas de diagnostic génétique, traitement par cobalamine, levocarnil, régime). Ses antécédents personnels comprennent une allergie aux protéines de lait de vache (IgE spécifiques) traitée par du lait sans lactose. À 7 mois, une cassure pondérale avec vomissements conduit à un changement de 'lait' pour une préparation contenant des protéines fortement hydrolysées (Nutramigen 3LGG). Il est vu en consultation le 18 janvier 2019 ; la majoration des vomissements et la stagnation persistante de sa courbe staturopondérale conduisent à la prescription de 'lait' constitué d'acides aminés libres (Nutramigen Puramino). Une nouvelle consultation est prévue le 29 janvier 2019 mais le 22 janvier, l'enfant présente des vomissements incoercibles. Il est hospitalisé le lendemain en réanimation infantile. Les premiers éléments clinico-biologiques orientent vers un coma associé à une acidose métabolique avec cétonémie, hyperammoniémie,

hyperglycémie et pancytopenie. Une maladie métabolique d'intoxication ou énergétique est évoquée. Le traitement, instauré avant les résultats d'analyses spécialisées, associe hypnotiques, analgésiques, épuration extrarénale, supplémentation en potassium, insuline, levocarnil, transfusions (CGR, PFC et CPA) et régime d'urgence glucidolipidique. Les résultats de biochimie spécialisée montrent une nette élévation de l'excrétion urinaire de la glycine, des acides méthylmalonique (5 736 mmol/mol de créatinine N < 10), 3-hydroxypropionique, méthylcitrique et des dérivés propionylglycine et tiglyglycine. Le diagnostic d'acidémie méthylmalonique décompensée au cours d'un épisode infectieux est posé ; une analyse génétique familiale est en cours pour identifier la mutation et affirmer le déficit en cobalamine A. L'enfant reste hospitalisé 2 mois ; l'évolution biologique est rapide mais le bilan neurologique reste réservé (syndrome pyramidal et extrapyramidal, trouble de la déglutition, hypotonie axiale).

Conclusion

L'acidémie méthylmalonique est une maladie métabolique génétique rare. L'enfant naît en général à terme et eutrophe. La pathologie se révèle sous forme de décompensation aiguë (coma, acidose métabolique, pancytopenie) lors d'un épisode médical intercurrent ; les lésions notamment neurologiques sont souvent irréversibles. Son dépistage est organisé dans certains pays (Etats-Unis, Canada, Chine, Australie) mais pas en France sauf quand il existe un cas index dans la famille (dépistage anté- ou néonatal possible). La prise en charge précoce (restriction protidique, vitamine B12, L carnitine) limite la formation de méthylmalonylCoA, sature les enzymes du métabolisme de la cobalamine et permet une épuration des acides organiques toxiques. Un diagnostic et une prise en charge précoces sont fondamentaux pour le pronostic qui varie aussi selon les composants impliqués. Les patients avec cblA ont le meilleur pronostic. L'une des complications majeures est l'insuffisance rénale terminale à l'adolescence ou à l'âge adulte.

** Prix poster** à Jennifer Guillerme

Comparaison de trois méthodes de dosage immunométrique de l'IGF-1 sérique

Guillerme Jennifer¹, Ziegler Frédéric^{1,2}, Guenet David³, Fraissinet François¹, Martin Sylvie⁴, Brunel Valéry¹

¹ *Service de biochimie générale, CHU de Rouen, France ;*

² *Inserm U1073, Université de Rouen-Normandie, France ;*

³ *Service de biochimie, CHU de Caen, France ; ⁴ Unité de biostatistiques, CHU de Rouen, France*

Introduction

La détermination des concentrations sériques de la protéine *insulin-like growth factor-1* (IGF-1) est couramment pratiquée dans le diagnostic et la prise en charge des troubles de la croissance, de l'acromégalie et de la caractérisation des adénomes hypophysaires. La diversité des dosages immunologiques, utilisant des anticorps d'affinités variables peut entraîner des variations dans les résultats obtenus. L'objectif de l'étude est d'évaluer la concordance des résultats selon trois méthodes d'analyse de l'IGF-1 sérique.

Matériel et méthodes

Des prélèvements sanguins ont été réalisés chez trente-quatre patients suivis en endocrinologie au CHU de Rouen (17 F et 17 H), afin de mesurer l'IGF-1 sérique selon trois méthodes immunométriques de dosage, sur les mêmes échantillons : Liaison XL (LXL ; DiaSorin), ISYS (IDS) et e602 (Cobas ; Roche). Après réalisation des tests de corrélation (test de Spearman ; Passing and Bablok), les résultats ont été comparés en prenant en compte les valeurs usuelles de chaque méthode. Chaque variable quantitative d'IGF-1 a été transformée en une variable qualitative à trois classes, une classe pour les valeurs inférieures aux valeurs usuelles, une classe pour les valeurs usuelles et une classe pour les valeurs supérieures aux valeurs usuelles. Les méthodes d'analyse ont été comparées deux à deux sur cette nouvelle variable qualitative. Dans ce but, le niveau de concordance entre les méthodes a été évalué par le test du kappa pondéré.

Résultats

Les 3 méthodes étaient corrélées deux à deux ($r \geq 0,94$) sans déviation de la relation linéaire ($p > 0,70$). Les concentrations mesurées en IGF-1 retrouvent une moyenne de 210, 179 et 172 ng/L, respectivement pour le LXL, l'ISYS et le e602. Exprimés en classes, les résultats montrent :

Valeurs	< usuelle		usuelle		> usuelle	
	Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
LXL	3	8,8	26	76,5	5	14,7
ISYS	4	11,8	23	67,6	7	20,6
e602	9	17	26,5	50,0	8	23,5

Le calcul des taux de discordance et du kappa pondéré des méthodes comparées deux à deux montre :

	Taux de discordance	IC95	Kappa pondéré	IC95
LXL - ISYS	15 %	0,05 ; 0,31	0,73	0,42 ; 0,92
LXL - e602	26 %	0,13 ; 0,44	0,64	0,40 ; 0,85
ISYS - e602	24 %	0,11 ; 0,41	0,72	0,50 ; 0,88

Quelles que soient les comparaisons, les taux de discordance sont élevés. Les résultats des kappas pondérés

sont inférieurs à 0,9, confirmant une faible concordance des 3 méthodes entre-elles. La méthode ISYS fournit plus souvent des résultats hors de la normale que LXL. La méthode e602 fournit plus souvent des résultats hors de la normale que LXL ou ISYS, cela étant explicable par une étendue des intervalles de référence plus faible sur e602.

Conclusion

Les discordances entre les 3 méthodes apparaissent importantes compte tenu des valeurs usuelles fournies par les fabricants. Au total, pour le suivi des patients, l'utilisation de la même méthode immunométrique de dosage de l'IGF1 est préconisée.

Recherche des anticorps anti-érythropoïétine chez des hémodialysés chroniques et impact clinique

Tira Mariem, Ben Ali Imen, Ba Alif, Zribi Asma, El Elmi Alia, Chaouech Mariem, Aouini Saloua, Benhmida Fethi*, Dhaoudi Tarak, Sfar Imen, Ben Abdallah Taieb, Gorgi Yousr

Laboratoire de recherche de la transplantation rénale et d'immunopathologie (LR03SP01) ; * Service de médecine interne, Hôpital Charles Nicolle, Université Tunis El Manar, Tunisie

Introduction

L'érythropoïétine recombinante (rhEPO) a révolutionné la prise en charge de l'anémie, chez les insuffisants rénaux chroniques, en réduisant considérablement le recours aux transfusions sanguines. Cependant et malgré la conservation des séquences de l'EPO, cette thérapie présente un risque immunogène avec l'apparition d'anticorps anti-érythropoïétine (Ac anti-EPO). Dans ce contexte, une recherche de ces anticorps chez des patients tunisiens hémodialysés a été réalisée afin de déterminer leur prévalence et leur impact clinique.

Matériel et méthodes

Il s'agit d'une étude transversale rétrospective ayant colligé 176 hémodialysés, sous rhEPO, subdivisés, selon l'efficacité du traitement par rhEPO, en 2 groupes, G1 : 86 malades, qui malgré une bonne observance pendant au moins une année, ont gardé des chiffres bas d'hémoglobine avec nécessité de recours à la transfusion de culots globulaires et G2 : 90 malades qui ont bien répondu au traitement. Un test Elisa (home-test) a été utilisé pour la recherche des Ac anti-EPO.

Résultats

Les Ac anti-EPO se sont révélés positifs chez 21 patients, soit 12 % des cas avec une différence statistiquement significative entre les deux groupes (19 malades du G1 versus 2 cas du G2) ($p = 0,0001$). Ces anticorps étaient plus prévalents chez les hommes comparativement aux femmes ($p = 0,008$), mais leur positivité ne semble pas être influencée ni par la moyenne d'âge, ni par la durée de dialyse. Par ailleurs, et bien que les densités optiques de la plupart des positivités anti-EPO soient faibles, une résistance à l'EPO a été objectivée chez une jeune femme du G1 chez qui un myélogramme a confirmé le diagnostic d'une érythroblastopénie modérée.

Conclusion

Les Ac anti-EPO étaient relativement prévalents dans notre série. Néanmoins, leur valeur pronostique mériterait d'être étudiée sur une cohorte prospective portant sur un plus grand nombre des patients.

Dosage d'albumine glyquée par méthode enzymatique sur Cobas 6000

Rambaud Antoine¹, Hay-Lombardie Anne¹, Kamel Said², Herbreteau Guillaume¹, Bigot-Corbel Edith¹

¹Laboratoire de biochimie, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes, Hôpital Guillaume et René Laënnec, Nantes, France ; ²Laboratoire de biochimie, Centre Hospitalier Universitaire d'Amiens, Amiens, France

Dans certaines situations (hémolyse, transfusion, hémoglobinopathie, grossesse, insuffisance rénale...), le dosage de l'HbA1c ne peut pas être utilisé pour la surveillance de l'équilibre glycémique du patient diabétique. Le dosage des fructosamines est alors une alternative possible, reflétant la glycémie des trois dernières semaines, mais il présente également des limites : interférences colorimétriques, hypoprotidémie... Ainsi l'utilisation, pour le suivi des patients diabétiques, d'un nouveau paramètre tel que l'albumine glyquée est très pertinent dans la mesure où il reste fiable y compris dans les situations décrites ci-dessus.

Nous avons réalisé le dosage de l'albumine glyquée par méthode enzymatique sur l'analyseur Cobas 6000 Roche® avec le réactif commercialisé par la société Werfen®. L'étude a été réalisée sur 235 sujets diabétiques ou non (138 hommes, 97 femmes, âge médian 58,4 ans), pour lesquels un dosage d'HbA1c était prescrit. Les valeurs d'albumine glyquée chez les sujets présentant un équilibre glycémique correct est compris entre 12 et 13 % (intervalle de confiance à 95 %). En cas de déséquilibre glycémique, les valeurs d'albumine glyquée peuvent être très élevées, jusqu'à 85 % dans notre étude. La glycation de l'albumine est 2 fois plus

importante que celle de l'hémoglobine lorsque l'équilibre glycémique est correct et jusque 4 fois plus lorsque le diabète est déséquilibré. Dans notre étude, aucune corrélation n'est retrouvée entre l'albumine glyquée et l'âge ($p = 0,087$ (Anova)) de même qu'entre l'albumine glyquée et le sexe ($p = 0,253$, Mann-Whitney)). La corrélation entre les valeurs d'albumine glyquée et les valeurs l'HbA1c est très bonne et conforme aux données de la littérature avec une équation de la droite d'allométrie : Albumine glyquée(%) = $3,90 \times \text{HbA1c}(\%) - 8,7$. La corrélation avec les fructosamines est également très bonne. Une correspondance entre les valeurs seuils d'HbA1c définies par la Haute autorité de santé (HAS) et des valeurs seuils d'albumine glyquée a été établie : aux seuils d'HbA1c respectivement définis par la HAS pour la prise en charge du patient diabétique de 6,0 ; 6,5 ; 7,0 ; 7,5 ; 8,0 et 9,0 % correspondent des valeurs d'albumine glyquée théoriques de 14,7 ; 16,7 ; 18,6 ; 20,6 ; 22,5 et 26,4 %. L'état de la fonction rénale apprécié par le débit de filtration glomérulaire (DFG) n'impacte pas la valeur d'albumine glyquée. En effet, aucune corrélation n'est retrouvée entre l'albumine glyquée et le DFG quel que soit l'état de la fonction rénale : normale ($n = 79$), insuffisance rénale chronique (IRC) légère ($n = 48$), IRC modérée ($n = 56$), IRC sévère ($n = 20$) ou IRC terminale ($n = 24$).

Prix poster à Ambroise David et Cécile Malaure

Impacts du polymorphisme génétique du CYP3A5 sur le suivi thérapeutique du tacrolimus chez un enfant transplanté hépatique

David Ambroise¹, Malaure Cécile¹, Noe Gaëlle¹, Verstuyft Céline², Laborde Nolwenn³, Furlan Valérie¹

¹UF de pharmacologie-toxicologie, Service de biochimie, ²Service de génétique moléculaire, pharmacogénétique et hormonologie, ³Service d'hépatologie pédiatrique, CHU Bicêtre, AP-HP, France

Introduction

Le tacrolimus (TAC) est un immunosuppresseur très largement utilisé en transplantation hépatique pédiatrique. Sa pharmacocinétique est caractérisée par une variabilité intra- et inter-individuelle importante liée en partie à son métabolisme intestinal et hépatique impliquant le CYP3A4/5 et justifiant le suivi thérapeutique pharmacologique (STP) de cet immunosuppresseur. La période post-transplantation immédiate est critique puisque le risque de rejet aigu est accru, nécessitant d'optimiser rapidement la posologie du TAC. Nous présentons ici

l'impact du polymorphisme génétique du CYP3A5 sur le suivi thérapeutique du TAC chez un nourrisson transplanté hépatique.

Matériels et méthodes

Un nourrisson de 3 mois (poids = 5,4 kg) d'origine malgache, hospitalisé pour une insuffisance hépatocellulaire a bénéficié d'une transplantation hépatique avec donneur vivant apparenté. En post-transplantation il reçoit du TAC en monothérapie à la posologie initiale de 0,1 mg/kg/j et du basiliximab. Les concentrations sanguines résiduelles du TAC ont été dosées par méthode Eclia sur Cobas et la posologie a été adaptée en fonction des marges thérapeutiques (cibles 10-15 ng/mL jusqu'à J15 post-greffe puis 8-12 ng/mL). Les clairances orales (Cl/F) du TAC ont été estimées à J3 et J30 post-greffe par le rapport des concentrations résiduelles à l'équilibre sur les posologies. Les génotypes du receveur et du donneur pour le gène du CYP3A5 ont été déterminés à partir de prélèvements sanguins par séquençage *new generation sequencing* (NGS). Les paramètres biologiques, les médicaments co-administrés et les événements cliniques ont été enregistrés.

Résultats

À 0,1 mg/kg/j, la concentration de TAC mesurée est de 4,3 ng/mL. La marge thérapeutique (12,2 ng/mL) a été atteinte tardivement à partir de J9 post-greffe nécessitant des posologies élevées de TAC entre 0,6 mg/kg/j et 0,7 mg/kg/j (posologie RCP 0,1 à 0,3 mg/kg/j). À J27 post-transplantation, la posologie a été diminuée à 0,29 mg/kg/j suite à l'apparition d'effets indésirables et la concentration a été stabilisée autour de 2 ng/mL. Les Cl/F du TAC calculées à J3 et J30, (7,3 L/h et 34 L/h) sont élevées par rapport à celles décrites dans la littérature. La présence du génotype CYP3A5*1/*1 a été détectée chez la mère (greffon de l'enfant) et chez l'enfant (intestin) et est associée à l'expression du CYP3A5. Les ASAT et ALAT qui ont fortement diminué entre J0 et J3 et le FV à J1 à 79 % montrent une reprise fonctionnelle rapide du greffon. Des effets indésirables ont été notés : une acidose métabolique, une HTA, une neutropénie et une diarrhée à rotavirus, réversibles après diminution de la posologie.

Discussion-Conclusion

Le TAC est essentiellement métabolisé au niveau intestinal et hépatique par les CYP3A4/5. La présence du CYP3A5 *1/*1 chez l'enfant et le parent explique les difficultés d'optimisation de la posologie du TAC en post-greffe immédiate. L'enfant et le donneur étant malgaches présentaient un risque accru d'exprimer le CYP3A5. En

effet, l'expression d'un allèle 1* pour le gène du CYP3A5 est fréquente dans les populations afro-américaines (55-95 %). L'expression du CYP3A5 conduit à une Cl/F élevée du TAC nécessitant des doses importantes pour atteindre la marge thérapeutique. Ces posologies élevées sont probablement à l'origine des effets indésirables observés. Aucun rejet précoce n'a été détecté malgré le maintien d'une faible exposition. Ce cas clinique montre l'importance du suivi thérapeutique du TAC chez les patients expresseurs du CYP3A5 nécessitant une approche multidisciplinaire pour optimiser la posologie de l'immunosuppresseur et l'intérêt dans ce type de greffe d'étudier ce génotypage chez le receveur et le donneur.

****Prix poster** à Evelyne Heng**

Lymphome du manteau classique avec double fusion IGH/BCL1

Heng Evelyne¹, Osman Jennifer¹, Terre Christine¹, Denoux Yves², Rigau deau Sophie³, Rousselot Philippe¹, Maneglier Benjamin¹

¹Service de biologie médicale, ²Service d'anatomopathologie, ³Service d'hématologie clinique, Centre hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

Un homme de 57 ans, d'origine martiniquaise, sans antécédent notable, consulte pour le diagnostic d'un lymphome à cellules du manteau (LCM), lymphome B non hodgkinien de mauvais pronostic.

L'examen clinique retrouve une altération rapide de l'état général, cachexie avec perte de 13 kg associé à un syndrome tumoral marqué. Le bilan biologique met en évidence une hypercalcémie, une augmentation des LDH ainsi qu'une hyperlymphocytose isolée à 15 G/L.

La biopsie ganglionnaire retrouve une prolifération diffuse de cellules lymphoïdes de petite taille à noyaux souvent contournés, cytoplasme réduit, exprimant les antigènes CD20, CD5 et BCL1, sans expression du CD23, en faveur d'un LCM classique sans composante pléomorphe ni blastoïde.

Étonnamment, les cellules lymphomateuses circulantes sont très atypiques : de très grande taille, à haut rapport nucléocytoplasmique, noyaux très irréguliers, polylobés et parfois d'aspect folié (cellules en « trèfle »). La FISH utilisant les sondes IGH (14q32) et BCL1 (11q13) met en évidence deux clones : un clone minoritaire (≤ 5 % des cellules) arborant une simple fusion IGH/BCL1, résultant de la t(11;14 q13;q32), signature cytogénétique des LCM et un clone majoritaire avec 4 signaux d'hybridation. Cette

duplication de la t(11;14 q13;q32) fait suspecter un clone tétraploïde de LCM.

Alors que la t(11;14 q13;q32) est caractéristique des LCM, une duplication est très rare, et lorsqu'elle est présente, elle est principalement retrouvée dans les formes pléomorphe et blastoïde. Cette anomalie a été décrite comme étant à l'origine de cellules plus pléomorphes et de plus grande taille que ce qui est habituellement observé dans les LCM.

Nous décrivons ici un rare cas de LCM classique avec double fusion IGH/BCL1, à l'origine de deux aspects cytomorphologiques observés. Le patient a reçu 6 cures d'une polychimiothérapie R-DHAX (rituximab, dexaméthasone, cytarabine et oxaliplatine) avant d'être autogreffé. Un traitement d'entretien par rituximab a ensuite été poursuivi.

Liens d'intérêts : Les auteurs déclarent ne pas avoir de liens d'intérêts en rapport avec cet article.

Copyright of *Annales de Biologie Clinique* is the property of John Libbey Eurotext Ltd. and its content may not be copied or emailed to multiple sites or posted to a listserv without the copyright holder's express written permission. However, users may print, download, or email articles for individual use.