

Aide à la prescription

LAB/POST/PR02/INS01

Version 01

Mise en application le : 09/06/2017

Rédigé par : C. BRUNEAU
Date : 06/06/2017

Validé par : C. PACHETTI
Date : 08/06/2017

Approuvé par : E. SAPP
Date : 08/06/2017

Dans le cas de certains diagnostics, une aide est proposée au prescripteur afin de faciliter le choix des analyses.

Diagnostic des maladies infectieuses :

- ▶ Hémocultures par ponction veineuse périphérique
- ▶ Suspicion d'infection sur chambre implantable
- ▶ Endocardite
- ▶ Péricardite
- ▶ Méningo-encéphalite (hors HIV)
- ▶ Prélèvements cutanés
- ▶ Prélèvements en chirurgie orthopédique
- ▶ Dosage d'antibiotiques
- ▶ Indication du Quantiféron

Biochimie :

- ▶ Gazométrie, co-oxymétrie, lactate
- ▶ Marqueurs cardiaques
- ▶ Homocystéine
- ▶ Electrophorèse des protéines sériques
- ▶ Exploration rénale initiale
(devant une suspicion de maladie rénale)
- ▶ Suivi des insuffisants rénaux chroniques
(Analyses de BIOCHIMIE seulement)
- ▶ Glycémie et diabète
- ▶

Hématologie, hémostase et immunologie :

- ▶ Les anémies
- ▶ Le paludisme
- ▶ Le bilan de thrombose
- ▶ Profil protéique
- ▶ Allergie : la démarche diagnostique
- ▶ Diagnostic des maladies auto-immunes

Hémocultures par ponction veineuse périphérique

- Indications

- ➡ Sur prescription médicale écrite
- ➡ Devant toute fièvre d'origine indéterminée, surtout si elle est accompagnée de signes cliniques évocateurs d'infection.

- Quand ?

- ➡ Lors des pics thermiques ou hypothermiques,
- ➡ Lors des plateaux thermiques (température supérieure à 38°C ou 38,5°C ou 39°C selon les recommandations du service),
- ➡ En cas de frissons,
- ➡ En cas de choc inexpliqué.
- ➡ **AVANT TOUT TRAITEMENT ANTIBIOTIQUE.**
Dans le cas où le patient est malgré tout sous antibiothérapie, l'hémoculture peut cependant être prélevée, car le charbon présent dans les milieux inhibe partiellement les antibiotiques présents (noter ce traitement antibiotique sur la carte marquée de demande d'examen bactériologique du laboratoire). Cependant, dans les cas où la culture d'un germe est hautement souhaitable (endocardite..), si l'état du malade le permet, une fenêtre d'antibiothérapie doit être envisagée, de 3 jours (si antibiothérapie préalable de courte durée) à 6 jours (si antibiothérapie préalable de longue durée).

- Combien d'hémocultures prélever ?

Selon les prescriptions des médecins du service,

- ➡ 3 hémocultures / 24 heures lors des pics fébriles (**une hémoculture par pic : la méthodologie qui consiste à prélever plus de 2 flacons en même temps n'est pas validée dans notre structure**)
- ➡ 1 hémoculture par heure si la température est en plateau.
(Une hémoculture = 1 flacon aérobie **ET** 1 flacon anaérobie)

Cas particulier : suspicion d'endocardite cf. chapitre endocardite.

- Modalité de prélèvement

- Le sang ne doit pas être prélevé au travers d'un cathéter du fait des risques de contamination.
- Quantité de sang prélevé :

Chez l'adulte : La quantité optimale de sang est de 10 ml.

Chez l'enfant : 1 à 5 ml de sang selon possibilité et selon l'âge dans le flacon anaérobie (bouchon orange).

Se référer page 9 de ce guide pour les recommandations préanalytiques et aux fiches préanalytiques du catalogue sur l'Intranet.

- Matériel de prélèvement

En fonction du germe recherché, le prélèvement doit se faire sur des milieux différents résumés dans le tableau ci-dessous (flacon anaérobie et aérobie et si nécessaire tube de 10 ml ETDA). Les germes recherchés autres que les germes banals sont à noter sur le bon de prélèvement.

Micro-organismes recherchés	Flacon Aérobie et Flacon Anaérobie	Tube 10 ml ETDA
Germes banals	OUI	
Levures	OUI	
Bartonella, Mycobactéries Legionella, Coxiella Toxoplasme, Leptospire		OUI
Germes banals pour une hémoculture quantitative	OUI	OUI

Suspicion d'infection sur chambre implantable

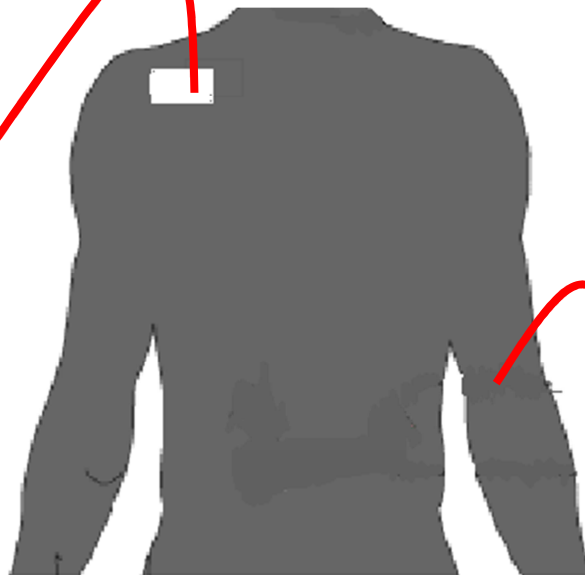
En cas de fièvre chez un patient porteur de chambre implantable, il faut réaliser simultanément, **sur la chambre** et **en périphérie** :

- 2 hémocultures standard en précisant bien le lieu de ponction (périphérique ou sur site)
- 2 tubes de 5 ml EDTA en précisant bien le lieu de ponction (périphérique ou sur site) et en notant sur le bon : hémocultures quantitatives.

A travers les sites



+



En périphérie



+



Ce:

bactériémie liée au site ou non.

Si la chambre implantable est infectée, le nombre de bactéries isolées sur les hémocultures de la chambre sera supérieur au nombre de bactéries isolées en périphérie.

Endocardite

Les hémocultures sont l'examen fondamental permettant d'isoler l'agent responsable dans la plupart des cas si la quantité de sang prélevée est suffisante.

Le sang ne doit pas être prélevé au travers d'un cathéter.

Le laboratoire de bactériologie (poste : 6083) doit être prévenu de la suspicion d'endocardite : les hémocultures seront alors gardées 21 jours pour permettre la croissance de micro-organismes à croissance lente (HACCEK, streptocoque déficients, levures...).

- ➡ Trois prélèvements veineux doivent être réalisés le premier jour.
 - o En cas de pics fébriles : au moment des pics
 - o En absence d'hyperthermie : 3 hémocultures à une heure d'intervalle.

- ➡ Si les hémocultures demeurent stériles, il est recommandé d'effectuer 3 autres hémocultures (à J1) sur 1 tube EDTA (ou plusieurs selon la nature de la prescription), en diversifiant les milieux et les techniques de culture pour rechercher des micro-organismes plus exigeants (champignons, *Bartonella*, *Coxiella*...).

En cas de végétation à l'échographie, en l'absence de germe identifié aux hémocultures initiales et à J3, prélever :

- ➡ un tube de sérum pour :
 - ✚ Sérologie Mycoplasme, Chlamydia, Légionelle, Brucella
 - ✚ Sérologie Rickettsie, Bartonella spp, Coxiella burnetii
 - ✚ Sérologie et Antigène Aspergillaire

- ➡ PCR Bartonella sur tube EDTA

- ➡ PCR 16S (tous germes) sur tube EDTA

Péricardite

- ➡ **Pas de bilan indiqué en cas de premier épisode** de péricardite ou en cas de cause évidente (hyper uricémie sévère, néoplasie évoluée...)

- ➡ Causes infectieuses :

- ✚ Etiologies virales

- o Grippe (recherche directe par écouvillonnage nasal)
 - o CMV (Sérologie, charge virale)
 - o EBV (Sérologie, charge virale)
 - o Adénovirus (PCR)
 - o Entérovirus (recherche directe par culture dans les selles)
 - o Parvovirus B19 (sérologie, PCR)
 - o Coxsackie (sérologie)
 - o VIH (sérologie)
 - o Oreillons (sérologie)
 - o Rubéole (sérologie)
 - o VZV (sérologie)

- ✚ Etiologies bactériennes

- o *Mycoplasme pneumoniae* (sérologie, PCR sur pharynx)
 - o Rickettsies, fièvre Q (sérologie, PCR)
 - o Maladie de Lyme (sérologie)
 - o Hépatite B: Ag HBs, Ac HBc
 - o Streptocoques du groupe A (ASLO, ASDOR)
 - o Mycobactéries tuberculeuses (IDR ou Quantiféron)

- ➡ Dysimmunitaire :

Facteur rhumatoïde, complexes immuns circulants, Ac anti cardiolipines, Ac anti DNA natif, anti SSA SSB anti Scl

- ➡ Néoplasique :

ACE, alphaFP, CA 125, CA 15-3, CA 19-9, NSE

Méningo-encéphalite (hors VIH)

Le diagnostic de méningo-encéphalite doit être validé par un contact préalable avec un membre du groupe Méningo-encéphalite : Olivier BALDESI, Thierry ALLEGRE, Laurent RENIE ou Laurence MAULIN.

Une fois le diagnostic validé, le laboratoire doit être prévenu pour déclencher les analyses.

Voir procédure CAI

Prélèvements cutanées

Généralités

- ➡ L'indication du prélèvement est médicale.
- ➡ Les prélèvements systématiques des « plaies sales » ou malodorantes n'ont pas d'intérêt
- ➡ Aucun examen bactériologique n'est nécessaire dans l'érysipèle dans sa forme typique, l'antibiothérapie devant couvrir le streptocoque de toute façon (Référence : conférence de consensus 2002 SPILF sur les infections de la peau et des tissus mous)
- ➡ Les prélèvements par aspiration (à l'aiguille souple) doivent être privilégiés
- ➡ Des informations médicales doivent être notées impérativement sur les bons pour informer les biologistes du contexte clinique et l'origine précise (localisation) et leur permettre d'orienter leur recherche
- ➡ Les milieux de transports qui permettent le maintien en vie de bactéries doivent être utilisés le plus souvent possible.

Prélèvements

- ➡ Quand un prélèvement profond (prélèvements à l'aiguille, biopsies...) est prévu (pour éliminer les contaminations cutanées), une antisepsie soigneuse nettoyage en 4 temps (détergation, rinçage, séchage et nouvelle antisepsie) doit être réalisée

- Dans les plaies aiguës et les morsures, si l'écoulement est peu abondant, le prélèvement peut être réalisé directement pour des recherches spécifiques : Pasteurellose, Streptocoque A, Staphylocoque doré, Bartonellose, etc.... Une antiseptie n'est pas souhaitable car elle peut faire disparaître la flore pathogène.

Examen bactériologiques des plaies chroniques ouvertes : escarres, ulcères, mal perforants

1 Indications

Le prélèvement bactériologique de la plaie est indiqué SEULEMENT en présence d'infection.

L'infection locale se définit par la présence de 2 des signes suivants : érythème, douleur, inflammation péri-ulcéreuse, œdème, écoulement purulent. Des signes d'infection générale doivent être recherchés : fièvre, altération de l'état général, syndrome inflammatoire. L'infection peut être profonde (ostéite, infection sur matériel).

Les plaies ouvertes sont le souvent colonisées par une flore bactérienne d'origine cutanée, voire digestive. Les prélèvements sont alors positifs, ce qui n'est pas synonyme d'infection.

2 Prélèvements par aspiration ou biopsie de la lésion : méthode

- Nettoyer la plaie (éliminer les exsudats, débrider les tissus nécrosés) à l'eau et au savon antiseptique dilué (Bétadine scrub ou Hibiscrub)
- Rincer et sécher
- En cas de plaie produisant un liquide, aspirer le liquide à l'aiguille fine (très peu de liquide est nécessaire, rajouter si besoin 1 ml de sérum physiologique stérile pour que le prélèvement ne dessèche pas).
- Faire une biopsie de la lésion ou cureter les berges de la lésion et placer le prélèvement dans un tube stérile avec quelques gouttes de sérum physiologique stérile pour les petits échantillons.
- Effectuer l'étiquetage du prélèvement et indiquer l'origine du prélèvement et les renseignements cliniques pour le microbiologiste.

Prélèvements cutanés dans les suspicions d'infection de prothèses orthopédiques

- L'écouvillon ne doit pas être utilisé dans les accidents cicatriciels.
- Le pus de la fistule est un mauvais prélèvement surtout lorsqu'il est prélevé avec un écouvillon et que la peau n'est pas désinfectée. La désinfection antiseptique soigneuse et le prélèvement à l'aiguille fine sont la meilleure façon de procéder. **Il ne faut pas traiter un malade à partir du résultat bactériologique d'un pus de fistule, surtout s'il n'y a qu'un seul prélèvement.**
- Seuls les prélèvements profonds per-opératoires permettent d'obtenir des données bactériologiques fiables.

Prélèvements en chirurgie orthopédique

- En dehors de l'urgence, toute antibiothérapie doit être interrompue 2 à 4 semaines avant les prélèvements.
- Aucune antibiothérapie prophylactique ne doit être effectuée avant que l'ensemble des prélèvements per opératoires ne soit réalisé.
- L'antibioprophylaxie opératoire doit être faite en cours d'intervention **APRES la réalisation des prélèvements.**

1 - Méthodes de prélèvements

Type	Méthode de prélèvement
Liquides	Prélèvement à la seringue et mettre dans : Pot stérile sans formol, ni conservateur, ni eau <u>et</u> flacons d'hémocultures
Solides	
-pour bactériologie	Pot stérile sans formol, ni conservateur, ni eau
-pour histologie	Liquide fixateur (éviter le liquide de Bouin)

Les prélèvements profonds visant à retrouver les germes responsables d'une infection osseuse doivent êtreensemencés le plus rapidement possible.

Si le délai de transport est supérieur à 4 h, il faut prévoir un milieu de transport (à demander au secrétariat du laboratoire).

En cas de difficulté diagnostic, un prélèvement supplémentaire peut être réalisé pour une éventuelle analyse ultérieure par ARN 16 S (PCR universelle).

Cela doit être TRES clairement indiqué sur le flacon.

2 - Nombres de prélèvements en per opératoire

Au minimum 3 prélèvements per opératoires doivent être réalisés, idéalement 5 (mais pas plus sauf exception), dans des zones anatomiques différentes bien précisées, **et conditionnés dans des pots stériles différents**. Les prélèvements doivent être réalisés avec **des instruments stériles et non encore utilisés depuis le début de l'intervention** et **changés à chaque prélèvement**.

Une analyse histologique sur biopsie osseuse doit être demandée systématiquement.

- Ponction articulaire en cas de matériel prothétique sous jacent

Par le chirurgien au bloc opératoire. Les conditions d'asepsie doivent être strictes et désinfection de la peau soigneuse.

Elle doit être réalisée avec une grosse aiguille permettant de ramener du pus épais.

S'il y a peu de liquide, on peut injecter puis ré-aspirer quelques ml de sérum salé isotonique: cette notion doit être notée sur le bon, l'examen quantitatif n'étant plus alors possible (dilution de titre inconnu)

Ces prélèvements ont la même valeur que des prélèvements per opératoires : tout germe isolé même en faible quantité doit être étudié.

-A ne pas faire

L'écouvillon ne doit pas être utilisé

Le pus de la fistule est un mauvais prélèvement surtout lorsqu'il est prélevé avec un écouvillon et que la peau n'est pas désinfectée.

-Interprétation des résultats

Une infection chronique sur PTH n'est pas une urgence et il faut dans un premier temps documenter l'infection avant de décider de la conduite à tenir par rapport à la prothèse.

La présence **dans plusieurs prélèvements** du ou des germes est le seul critère bactériologique qui permet d'impliquer un germe réputé non pathogène (*Staphylococcus à coagulase négative*, *P. acnes*...) comme responsable d'une infection sur matériel. Plusieurs espèces peuvent coexister.

Les prélèvements négatifs en cas d'infection sont le plus souvent dus :

- A un prélèvement fait sous antibiotiques (à reprogrammer après 10-15 jours)
- Des bactéries mortes pendant le transport
- Des prélèvements qui n'ont pas été conservés assez longtemps en culture
- Une tuberculose

Dosages antibiotiques

Systématique pour la Vancomycine et la Teicoplanine.

AMINOSIDES

Le taux résiduel n'est indiqué que pour des traitements de plus de 5 jours.

Le taux au pic est recommandé dès la première injection dans les sepsis graves pour réajuster la dose suivante.

Habituellement : traitement court (3 à 5 jours), en une seule injection par jour, à forte dose.

Administration : Durée de perfusion :

- ➡ Administration conventionnelle : 30 minutes
- ➡ Administration mono dose : 60 minutes

Prélèvements sanguins :

- ➡ Taux résiduel : juste avant l'injection suivante
- ➡ Taux au pic : à la fin de la perfusion.

Adaptation posologique

- ➡ Le taux au pic est nécessaire pour une prédiction d'efficacité et un ajustement posologique (Taux au pic : à la fin de la perfusion) et il doit être pratiqué dès la première injection.
- ➡ Le taux résiduel permet de réajuster le traitement afin d'éviter les zones toxiques

	Taux résiduel (mg/l)		Taux au pic (mg/l)	
	bi dose	mono dose	bi dose	mono dose
GENTAMICINE	<2	<1	6-8	24-30
TOBRAMYCINE	<2	<1	8-10	24-30
NETILMICINE	<2	<1	10-12	24-30
AMIKACINE	<5	<2	20-25	40-80

VANCOMYCINE

La Vancomycine doit toujours être injectée par une voie veineuse centrale en raison de sa veinotoxicité.

Elle peut être administrée de préférence en continu sur 24 heures mais peut être prescrite en 2 ou 3 injections par jour. Le but est d'obtenir un taux résiduel entre 5-10 mg/l et un pic entre 20 et 40 mg/l en cas d'administration discontinu. En cas d'administration continue, le but est d'obtenir un taux constant entre 20 et 30 mg/l.

TEICOPLANINE(TARGOCID)

Seul le taux résiduel est intéressant, il est prédictif de l'efficacité du traitement. Le taux au pic n'a pas d'intérêt. Le résiduel doit être prélevé juste avant l'injection suivante. L'obtention du taux résiduel souhaité (à réaliser le plus souvent avant l'injection du 4^{ème} jour) permet de passer du traitement d'attaque au traitement d'entretien. Un dosage régulier du taux résiduel en traitement d'entretien est toujours recommandé.

Indications	Traitement d'attaque	Traitement d'entretien	Résiduel souhaité (tube sec)
Infections de gravité modérée : infections pulmonaires, infections de la peau et des parties molles, infections urinaires, infections ORL	400 mg (6 mg/kg) IV en une injection à J1	200 mg/jour (3 mg/kg) en une injection IV ou IM.	≥ 10mg/l (HPLC) ≥ 15mg/l (FPIA)
Infections sévères : bactériémies, pneumopathies graves	400 mg (6mg/kg) par 12h IV pendant 1 à 4 jours	400 mg (6 mg/kg) en une injection IV ou IM.	≥ 10mg/l (HPLC) ≥ 15mg/l (FPIA)

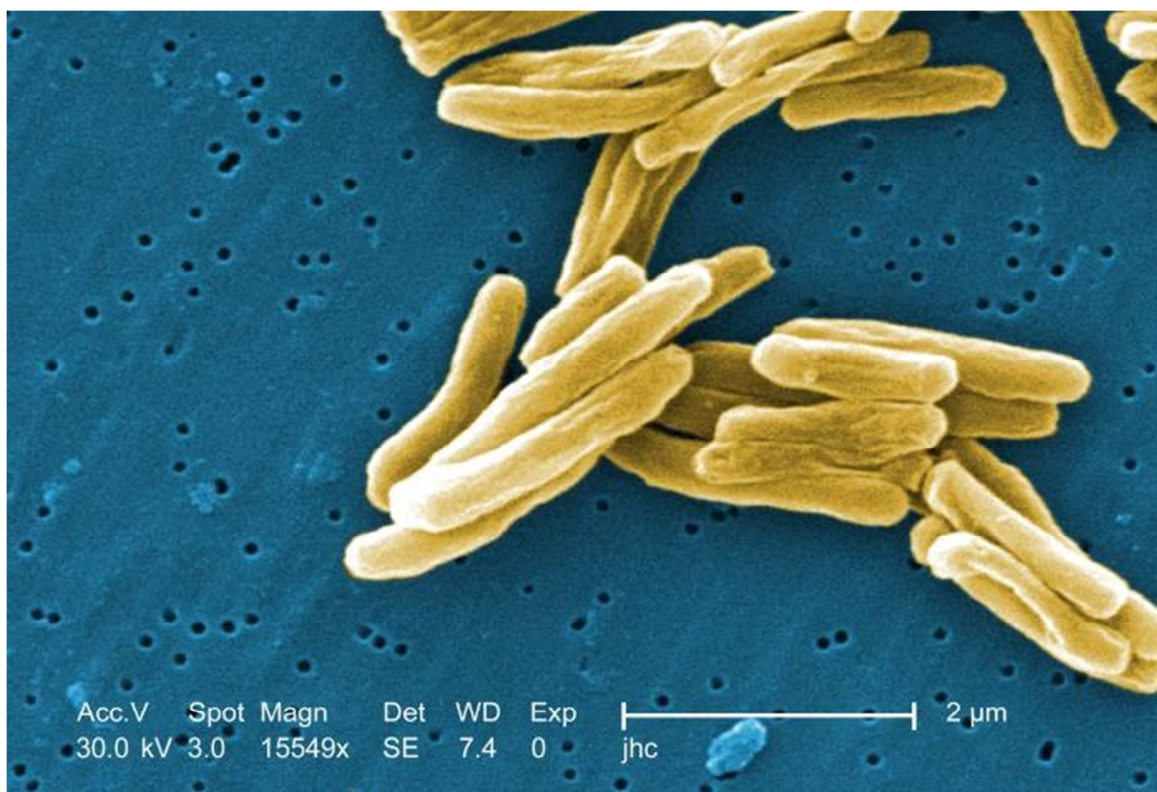
Situations cliniques particulièrement sévère : CMI élevée (4-8mg/l), pharmacocinétique difficilement prévisible (infections chez les grands brûlés, patients de réanimation...), diffusion tissulaire moindre (endocardites ou infections ostéo-articulaires)	12 mg/kg/12h pendant 3 à 5 injections	des doses unitaires plus élevées pouvant aller jusqu'à 12 mg/kg et plus peuvent être nécessaires	20 à 30 mg/l (HPLC) 30 à 40 mg/l (FPIA)
Prophylaxie de l'endocardite infectieuse en cas d'allergie aux bêta-lactamines et de contre indication à la Vancomycine	400 mg IV à l'induction	Association à un aminoside si prothèse valvulaire	

Pédiatrie : Les résiduels souhaités, en fonction des situations cliniques, sont les mêmes que chez l'adulte. Le traitement d'attaque est de 10-12 mg/kg toutes les 12 h pour les 3 premières injections puis de 10 mg/kg/j en traitement d'entretien. La posologie d'entretien peut être diminuée à 6 mg/kg/j si l'infection est modérée et l'enfant non neutropénique.

Indication du Quantiféron

Référence : Document HAS Test de détection de la production d'Interféron Gamma pour le diagnostic des infections tuberculeuses. Décembre 2006.

- ▶ Enquête autour d'un cas (uniquement chez les adultes de plus de 15 ans)
- ▶ Lors de l'embauche des nouveaux agents hospitaliers
- ▶ Diagnostic des formes extra pulmonaires de la tuberculose-maladie
- ▶ Avant la mise en route d'un traitement par anti-TNF alpha



Mycobacterium tuberculosis (Bacille de Koch) - Agrandissement

Gazométrie, Co-oxymétrie, lactate

Prescription :

Trouble respiratoire grave, défaillance cardio-vasculaire, état de choc.
Suspicion d'intoxication par le monoxyde de carbone.

Lactate :

Son dosage peut être fait sur le prélèvement des gaz du sang.
Son élévation est un indice de gravité. Ce dosage est utilisé pour la surveillance d'états de choc ou d'acidose métabolique (diabète, intoxication...).

Prélèvement :

Artériel en général, il peut être veineux.

La seringue doit être homogénéisée pendant 20 secondes puis transférée très rapidement au laboratoire.

Les non conformités du prélèvement altèrent les résultats : caillot, délai excessif entre le prélèvement et les mesures qui induit une diminution de la pO₂ et du pH et qui augmente la pCO₂, une bulle d'air qui augmente la pO₂ et diminue la pCO₂, un volume inférieur à 1 ml, l'absence de glace pour le Lactate.

Gazométrie standard :

Paramètres mesurés

pH : diagnostic d'acidose ou d'alcalose

pCO₂ : diminue dans l'hyperventilation alvéolaire et augmente dans l'hypoventilation alvéolaire.

pO₂ : diminue en cas de défaillance respiratoire ou cardio-vasculaire.

Paramètres calculés :

Bicarbonate (HCO₃⁻) : calculé à partir du pH et de la pCO₂.

Excès de bases : évaluation de la fraction non respiratoire de l'équilibre acide-base. Normalement égal à zéro (se négative en cas d'acidose métabolique).

Co-oxymétrie

MetHb % : la méthémoglobine est la forme oxydée de l' Hb (fer de l'hème à l'état ferrique Fe 3+), elle est non fonctionnelle et ne peut plus fixer l'oxygène.

HbCO % : la carboxyhémoglobine est l'hémoglobine dans laquelle le monoxyde de carbone (CO) prend la place de l'O₂, l'hémoglobine n'est plus fonctionnelle tant que le CO y est lié.

Marqueurs cardiaques

Troponine :

La troponine dosée au laboratoire est l'isoforme cardiaque TnIc.

Principales indications :

dans un bilan d'exclusion ou de confirmation du diagnostic d'infarctus du myocarde,

dans le cadre de la surveillance de l'angor instable, en chirurgie cardiaque et en chirurgie générale. C'est un **examen d'urgence** rendu dans les 2 h qui suivent l'arrivée du prélèvement au Laboratoire. La Troponine est détectée environ 3 à 5 h après la survenue de la souffrance cardiaque.

BNP :

Il est synthétisé par le cardiomyocyte, mais le BNP circulant est essentiellement d'origine ventriculaire.

En cas de dysfonction cardiaque, la concentration plasmatique de BNP augmente de façon proportionnelle à la distension ventriculaire.

Le dosage du BNP est une **aide au diagnostic, à l'évaluation pronostique et au suivi thérapeutique** des patients atteints d'**insuffisance cardiaque**.

Le BNP est également un facteur pronostique de mortalité dans l'infarctus du myocarde.

Homocystéine

L'**Homocystéine** est un acide aminé soufré formé à partir de la méthionine. Le métabolisme de l'homocystéine est régulé par l'action de plusieurs enzymes. L'homocystéine peut être augmentée dans le sang au cours de différentes circonstances

- dans l'**hyperhomocystinurie congénitale** (maladie métabolique par déficit enzymatique)
- dans les **carences en folates et en vitamine B12**.
- chez les **insuffisants rénaux et les sujets dialysés**.

De plus, d'après de nombreuses études chez les patients présentant des maladies cardio-vasculaires, l'**hyperhomocystéinémie sérique est considérée comme un facteur probable de risque cardio-vasculaire précoce**, indépendant des autres facteurs de risque connus.

Electrophorèse des protéines sériques

L'électrophorèse des protéines sériques apporte de nombreux renseignements qui aident au diagnostic mais qui, en aucun cas, ne suffisent à le poser. C'est un **examen d'orientation** qui est préalable aux autres explorations des protéines du sérum.

Indications :

- Dysprotéinémies (myélome, maladie de Waldenström)
- Glomérulopathies - Hépatites - Syndromes inflammatoires ou infectieux
- Déficits immunitaires - Dénutrition

Immunofixation :

Sur le plan qualitatif, la caractérisation des fractions anormales détectées à l'électrophorèse est faite grâce à l'immunofixation qui permet ainsi le typage des gammopathies.

Exploration rénale initiale (devant une suspicion de maladie rénale)

Examens de première intention :

- **Créatininémie, urée plasmatique** (bien que cette dernière soit redondante)
- **Ionogramme plasmatique** (Na,K,Cl,HCO₃⁻)
- **Ionogramme urinaire** (Na,K)
- **Créatininurie**
- **Rapport protéinurie/créatininurie** sur échantillon d'urine (ne plus recueillir les urines de 24h)
- **Evaluation du débit de filtration glomérulaire (DFG)**. Pour cela, utiliser la clearance calculée de la créatinine selon la méthode de **Cockcroft et Gault**, nécessitant l'âge et le poids. Des sites internet sont disponibles pour un calcul rapide.

Etude de la protéinurie :

Le dépistage par l'utilisation de bandelettes réactives est simple, mais le résultat quantifié est obligatoire.

De plus, la caractérisation d'une protéinurie va faire appel à des examens complémentaires.

Les tests les plus utiles sont : **albuminurie, albuminémie, électrophorèse des protéines urinaires**. Selon le contexte clinique ou les résultats de l'électrophorèse, on réalisera une **immunofixation** à la recherche d'immunoglobulines monoclonales.

La présence d'une albuminurie abondante supérieure à 3g/24h entre dans le cadre d'un syndrome néphrotique si l'albuminémie est inférieure à 30g/l.

Suivi des insuffisants rénaux chroniques (Analyses de BIOCHIMIE seulement)

Bilan mensuel :

Albumine, Calcium / Phosphore, Acide urique, % de saturation de la sidérophiline, Transaminases, Phosphatases alcalines, Gamma GT, Bilirubine.

Bilan trimestriel :

Cholestérol total, HDL cholestérol, LDL cholestérol et Triglycérides.

Bilan semestriel :

Magnésium, Electrophorèse des protéines, Homocystéine, Vitamine B12 /Folates, Parathormone et 25 OH, Vitamine D3.

Glycémie et diabète

Diagnostic du diabète :

Glycémie dosée au laboratoire, prélèvement fait le matin, après 8 heures de jeûne. Le diabète est défini par une **glycémie à jeun ≥ 7 mmol/l à deux reprises**. Un **état pré-diabétique** correspond à une **glycémie à jeun comprise entre 5.6 et 6.9 mmol/l**.

Surveillance biologique du diabète :

Glycémie, Glycosurie, Cétonurie (corps cétoniques). Chez le diabétique traité par l'insuline, il faut toujours interpréter la présence de corps cétoniques en fonction de la glycémie et de la glycosurie.

HbA1c : l'hémoglobine glyquée reflète la glycémie des 2 derniers mois.

Objectif thérapeutique optimal : **HbA1c $< 6.5\%$** de l'Hb totale. L'examen est à pratiquer tous les deux mois.

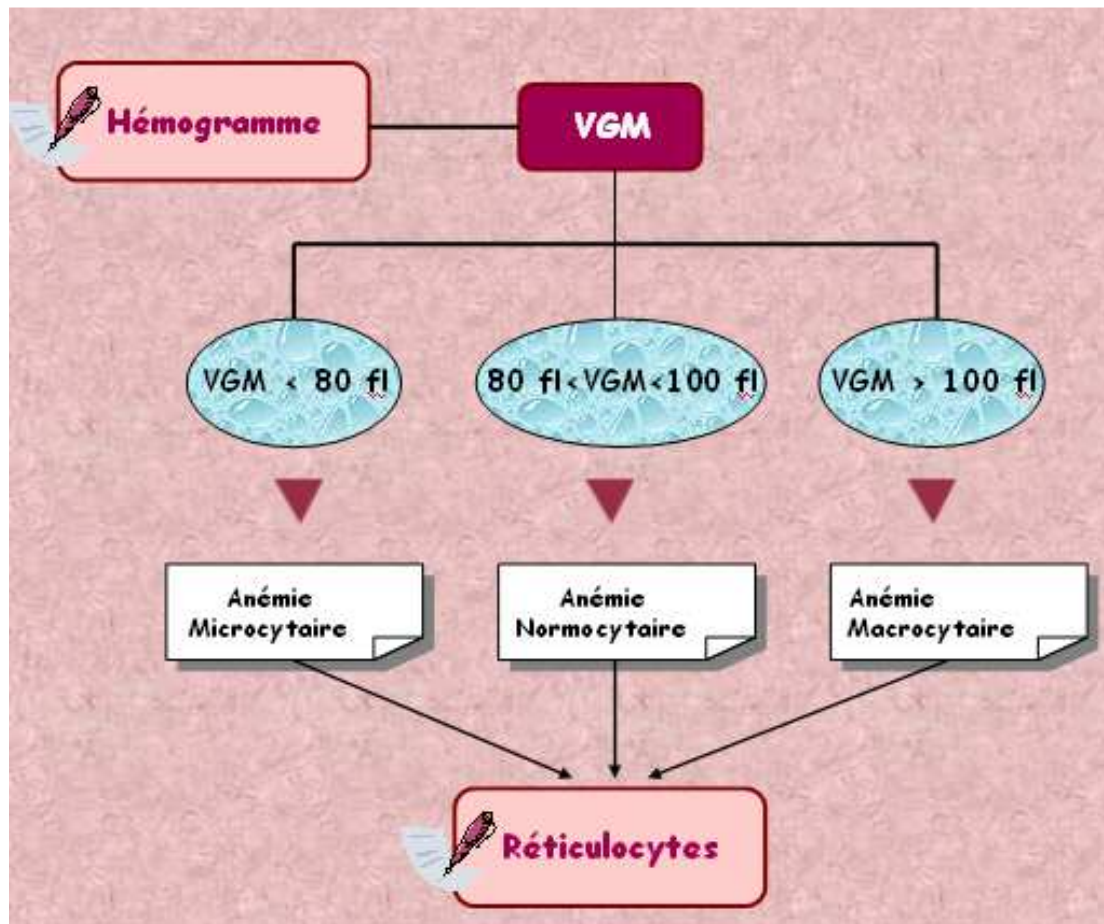
Examens à pratiquer régulièrement : **Bilan lipidique** (Cholestérol total, HDL-C, calcul LDL-C, Triglycérides), **Créatinine avec calcul de la clearance**, **Micro albuminurie**. La présence d'une micro albuminurie constitue un marqueur précoce de la survenue de complications rénales dans le diabète.

Les anémies

Les anémies se définissent par la diminution du taux de l'hémoglobine.

Cette définition a comme seule limite les **pseudos anémies** liées à une variation du volume plasmatique, rencontrées : au cours de la **grossesse** (hémodilution physiologique après le quatrième mois), plus rarement lors de dysglobulinémies monoclonales importantes et dans les syndromes œdémateux liés à une insuffisance rénale ou cardiaque.

L'anémie peut être le résultat d'une **insuffisance de production médullaire** ou d'un excès de destruction des globules rouges.



Démarche diagnostique :

A partir des données de l'hémogramme, la première orientation basée sur l'analyse du VGM (volume globulaire moyen) permettra de distinguer 3 types d'anémie :

- ☛ **Anémie Microcytaire**
- ☛ **Anémie Normocytaire**
- ☛ **Anémie Macrocytaire**

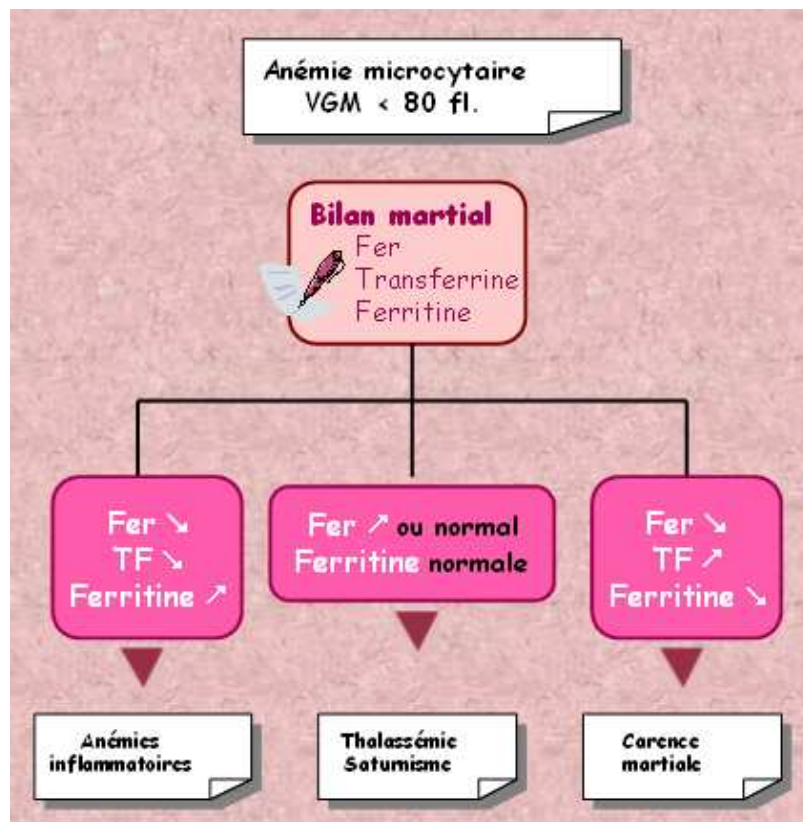
Dans tous les cas l'analyse des réticulocytes est essentielle pour déterminer le caractère régénératif de l'anémie.

Anémie Microcytaire :

Réticulocytes généralement bas

Un trouble du métabolisme du fer est à l'origine d'une anémie microcytaire. Les principales causes envisagées sont :

- ☛ la **carence martiale**, cause la plus fréquente de ce type d'anémie.
- ☛ les **anémies inflamma-toires** dans le cadre d'infec- tions chroniques, d'affection rhumatismale ou de néoplasie.
- ☛ la **thalassémie** et le **saturnisme** où le taux de réticulocytes est cependant élevé.



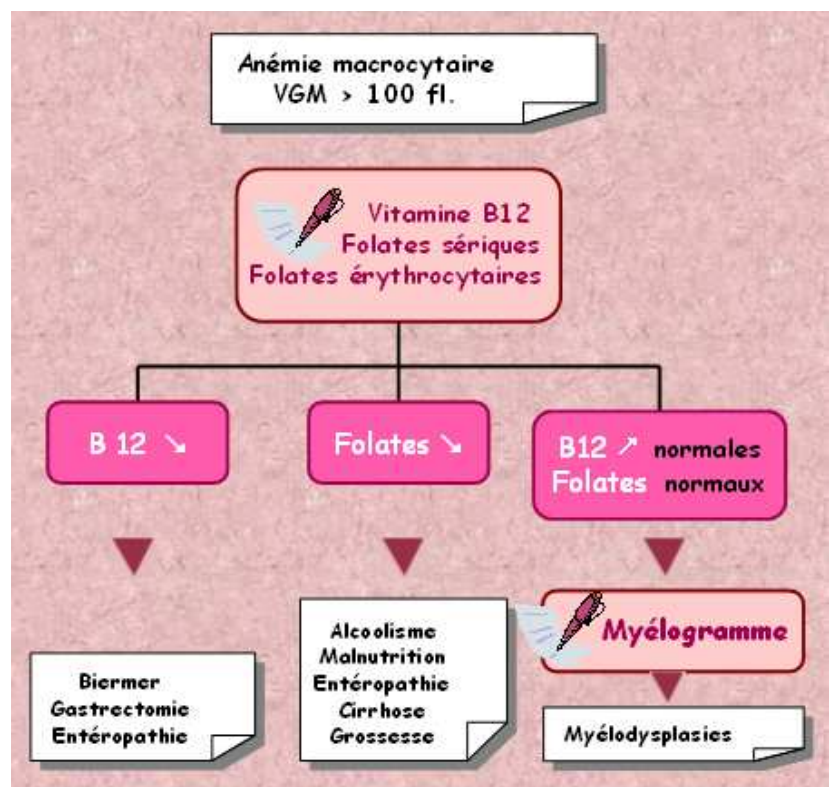
Anémie Macrocytaire :

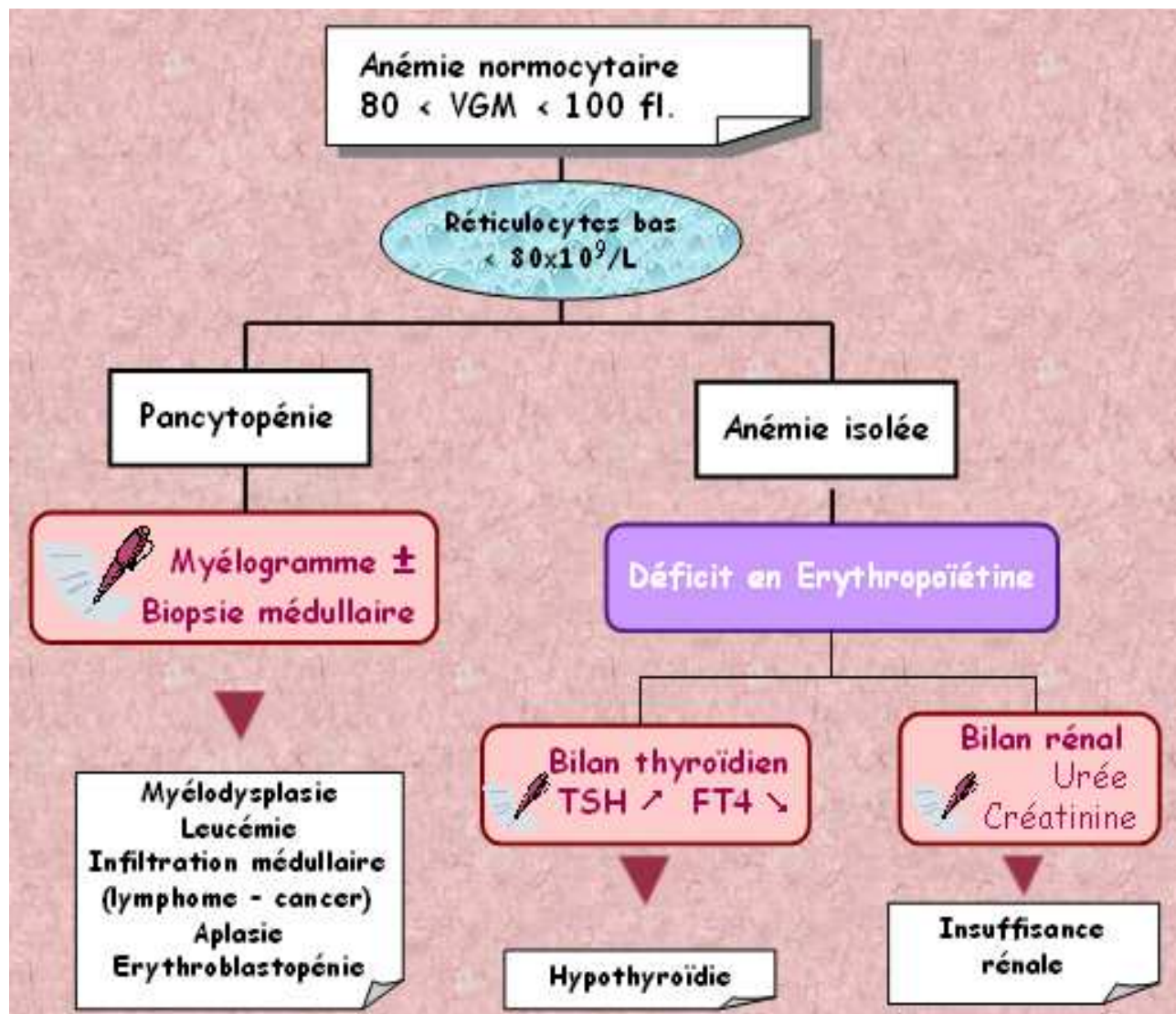
Réticulocytes généralement bas

Une carence d'apport vitaminique (vitamine B12 et/ou folates) reste la cause la plus fréquente : alcoolisme, grossesse non suppléementée ou régime alimentaire mal équilibré.

Des troubles de **malabsorption** intestinale doivent être envisagés dans le cadre d'une symptomatologie digestive chronique.

Une anémie macrocytaire sans

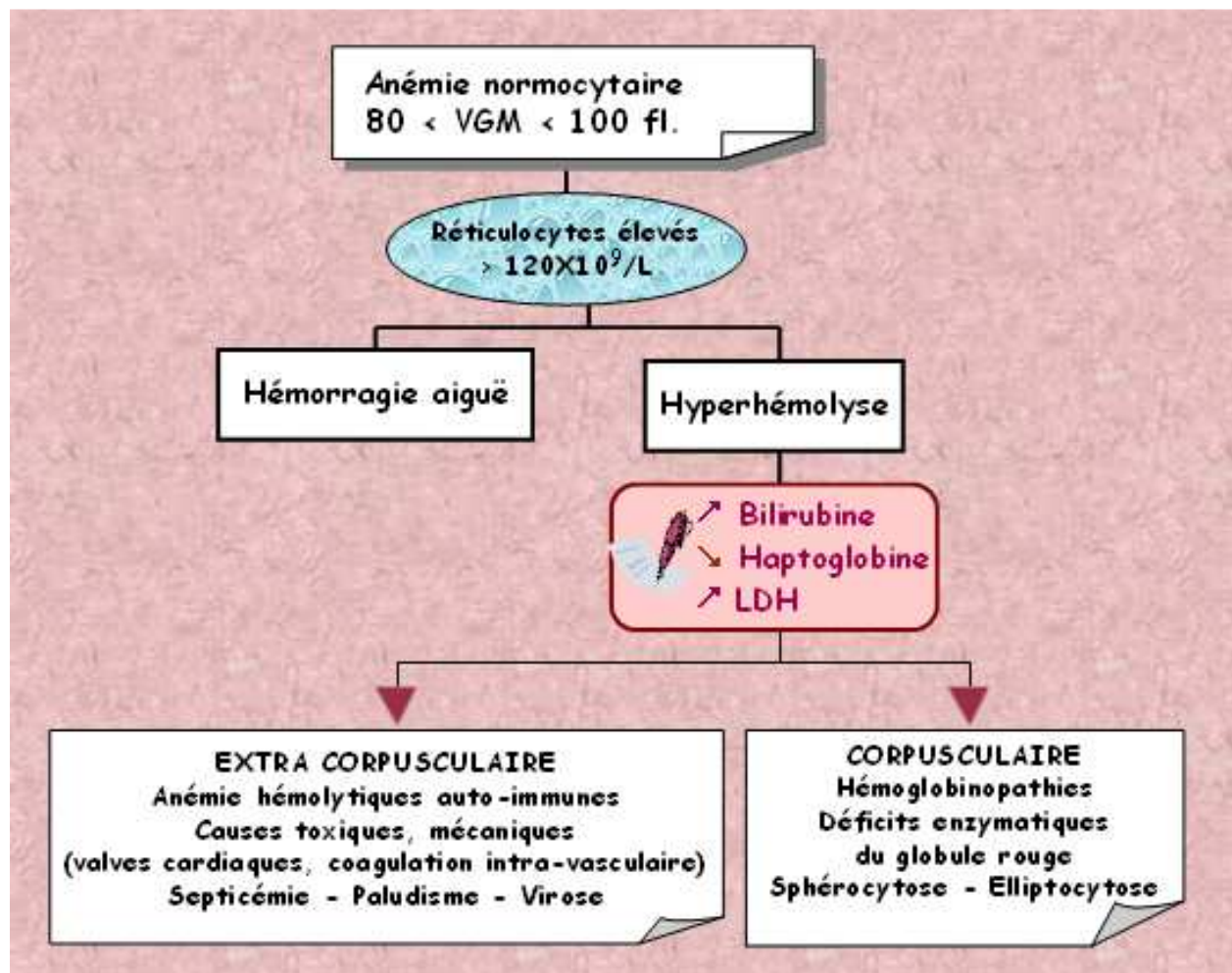




Anémie Normocytaire :
Réticulocytes bas

Une anémie normocytaire arégénérative entrant dans le cadre d'une pancytopénie signifie principalement une atteinte centrale nécessitant une exploration médullaire (myélogramme et/ou biopsie médullaire).

Une anémie isolée doit faire rechercher soit une insuffisance thyroïdienne ou rénale, soit exceptionnellement une érythroblastopénie pure (origine immunologique, parvovirus B19) ou un état inflammatoire débutant.



Anémie Normocytaire :
Réticulocytes élevés

La réticulose élevée est le reflet d'une régénération médullaire.
En dehors d'un tableau d'hémorragie aiguë, le bilan s'orientera principalement
vers la recherche de stigmates biologiques d'une hémolyse

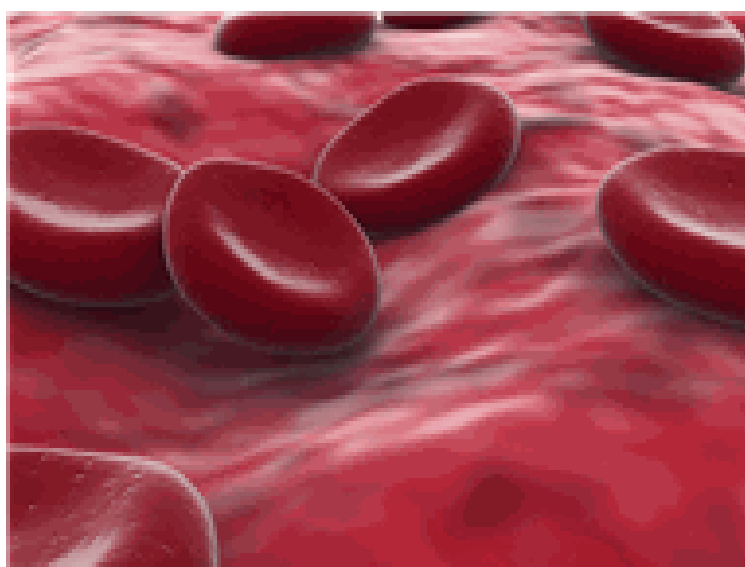
Valeurs normales des laboratoires du C.H.P.A.

Valeurs normales chez l'adulte

	Hommes	Femmes
Hématies ($\times 10^{12}/l$)	4,2 - 5,7	3,8 - 5,0
Hématocrite (%)	38 - 52	32 - 47
Hémoglobine (g/dl)	14 - 17	12 - 15
Leucocytes ($\times 10^9/l$)	4 - 10	4 - 10
Plaquettes ($\times 10^9/l$)	150 - 450	150 - 450

Constantes

VGM	(fl.)	80 - 100
CCMH	(%)	31 - 36,5
Taux de réticulocytes	(/mm ³)	30 000 - 90 000
Fer sérique	($\mu m/l$)	7 - 27
Transferrine	(g/l) en fonction de l'âge	2 - 3
CST	(%)	25 - 35
Ferritine	(ng/ml)	Hommes : 30 - 350 Femmes : 15 - 150



Paludisme

Le prélèvement doit être effectué de préférence au moment du pic thermique sur un tube EDTA de 3.5 ml (bouchon violet).

La feuille de demande doit préciser au verso, de façon indispensable :

- ➡ le nom, bip ou téléphone du prescripteur
- ➡ le contexte clinique :
 - lieu et durée de séjour en zone d'endémie
 - date du retour
 - chimioprophylaxie suivie (type, posologie, date de début et d'arrêt)
 - symptomatologie du patient (température...)

Le frottis sanguin et la goutte épaisse sont effectués en urgence.

Le test rapide **PALUTOP** est fait en complément du frottis et de la goutte épaisse.

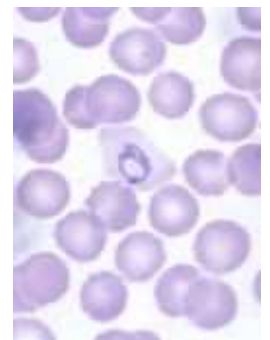
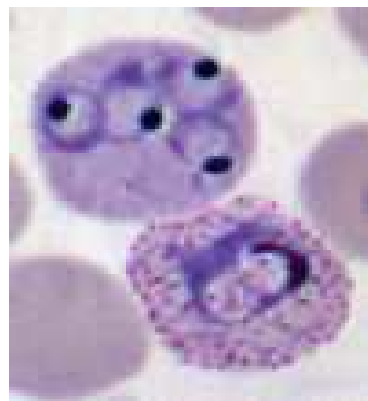
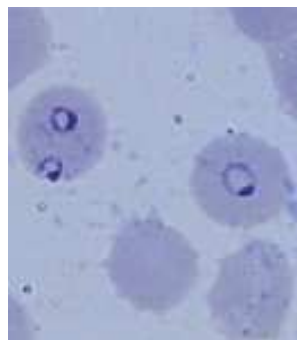
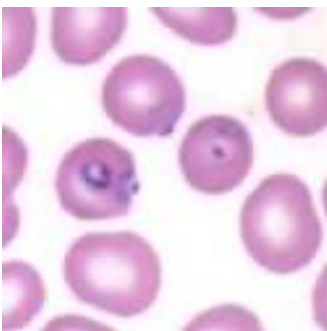
C'est une aide au diagnostic différentiel entre *Plasmodium falciparum*, *Plasmodium vivax* et les autres espèces de *Plasmodium* (*P. ovale*, *P. malariae*).

Il peut être faussement négatif lors d'une parasitémie inférieure au seuil de détection du test. Il peut rester positif 15 jours à 3 semaines après le début du traitement.

En cas de positivité, les résultats sont téléphonés dans les plus brefs délais au prescripteur.

Secondairement dans le cas d'un résultat positif, un biologiste contacte le service ayant pris en charge le patient afin de remplir un questionnaire à visée épidémiologique destiné au centre National de Référence pour les Maladies d'Importation (CNRMI).

Un tube EDTA pour étude de la résistance aux antipaludéens est adressé à l'institut de médecine tropicale des armées à Marseille.



Exploration biologique d'une thrombophilie

• Contraintes à respecter :

- Absence de prise d'anti vitamine K ou arrêt depuis au moins de 3 semaines pour la Protéine S
- Absence d'héparinothérapie ou arrêt depuis au moins 10 jours pour l'antithrombine.
- Pour les femmes préciser si prise de contraception orale ou traitement hormonal substitutif ou grossesse
- Imprimer le document n°1 "Examen des caractéristiques génétiques" (Intranet - Accès rapide : docs à joindre). Faire remplir ce document par le patient (consentement) et par le médecin prescripteur (attestation de consultation et renseignements cliniques).

• Examens à pratiquer :

- Numération et formule sanguine
- TP, TCK, Fibrine,
- Examens du BILAN DE THROMBOSE : Antithrombine (AT), Protéine C et S (PC, PS), Etude du gène du facteur V (ou facteur V de Leiden), Etude du gène du facteur II, Anticoagulants circulants (ACC), Anticorps anticardiolipines (ACL), Anticorps antiB2GP1.
- Le dosage de l'homocystéine ainsi que le dosage du facteur VIIIC peuvent être envisagés notamment dans les formes graves de maladie thromboembolique veineuse chez l'enfant et l'adulte jeune.

• Tubes à prélever :

- 1 tube EDTA, bouchon violet
 - 4 tubes citratés, bouchon bleu
 - 1 tube sec sans gel, bouchon rouge + 1 si homocystéinémie
- Ne pas oublier de joindre le document n°1 "Examen des caractéristiques génétiques" correctement renseigné.

Allergie : la démarche diagnostique

Principaux examens et interprétation

La démarche diagnostique requiert deux étapes :

Une première étape clinique :

- ➡ Un interrogatoire minutieux
- ➡ Une recherche des IgE cellulaires par des tests cutanés ou Prick test

Ils permettent de mettre en évidence la présence d'Ig E spécifiques fixées à la surface des mastocytes cutanés et nécessitent l'arrêt des traitements contenant des antihistaminiques, en moyenne 1 semaine au préalable.

Une seconde étape biologique :

IgE spécifiques ou RAST : Recherche

La recherche s'effectue au moyen de tests unitaires composés de mélanges d'allergènes

- ➡ soit des **principaux pneumallergènes** : Phadiatop
- ➡ soit **d'allergènes plus ciblés et en nombre plus restreint** (code gx, tx.. pour les pneumallergènes et fx 5 pour les trophallergènes)

Ils renseignent globalement sur la présence d'IgE spécifiques des allergènes présents dans le mélange, **sans identifier l'allergène impliqué.**

IgE spécifiques ou RAST : Identification

L'identification fait appel à des techniques de dosage quantitatif des IgE spécifiques d'un seul allergène ciblé au cours de l'interrogatoire et des tests cutanés.

Concernant les allergies respiratoires, un **capteur de pollens** est situé sur le toit de l'hôpital et enregistre toutes données polliniques. Chaque semaine, un bulletin est édité et publié sur le site intranet du CHPA. Il oriente sur les choix des allergènes à tester en fonction des saisons et permet aux prescripteurs de démarrer les traitements.

Réactions croisées :

Les réactions immunitaires de type anticorps se font par rapport à des épitopes présents à la surface des molécules.

Ces épitopes peuvent être communs à plusieurs substances taxonomiquement proches (allergènes du groupe des graminées) ou non (allergènes de pollens et de fruits, latex et fruits...)

Les allergènes en cause appartiennent le plus souvent à des mêmes familles moléculaires comme les albumines, les protéines de transfert des lipides (LTP).

Des déterminants antigéniques sucrés sont également responsables de réactions croisées. On les retrouve souvent chez des patients fortement sensibilisés aux pollens.

Le diagnostic in vitro dispose actuellement de plus en plus d'allergènes moléculaires, de structure bien connue, soit naturels purifiés, soit recombinants, qui vont permettre de mieux comprendre ces réactions croisées.

Test cellulaire : test de dégranulation des basophiles

Il consiste à étudier la réponse des basophiles du patient à un antigène.

Il est réservé aux allergènes qui n'existent pas en technique RAST

Dosage de médiateurs dans le choc anaphylactique.

L'histamine et la tryptase sont les principaux médiateurs recherchés au cours des accidents anaphylactiques.

L'histamine est libérée rapidement de demi-vie brève.

La tryptase est libérée plus tardivement et de demi vie plus longue.

La cinétique de ces marqueurs est suivie au cours des réactions anaphylactiques avec 2 prélèvements réalisés 15 à 30 mn et 1 à 2h après le début des symptômes. Un sac " choc anaphylactique" délivré par le laboratoire regroupe les différents tubes à prélever.

IgE totales sériques:

On peut observer une augmentation des IgE totales dans des affections autres qu'allergiques, comme les parasitoses, certains déficits immunitaires...

Un taux élevé d'IgE totales n'est pas spécifique d'un terrain atopique et un taux normal ou bas n'exclut pas une allergie.

Allergie : la nomenclature (arrêté du Jo 28 novembre 2003)

Test unitaire vis-à-vis d'allergènes mélangés sur un même support :

Recherche de pneumallergènes : 1 seule cotation par patient B55

Recherche de trophallergènes : prise en charge limitée à 3 mélanges différents B55

IgE spécifiques

Pneumallergènes : prise en charge limitée à 5 allergènes B55 par allergène

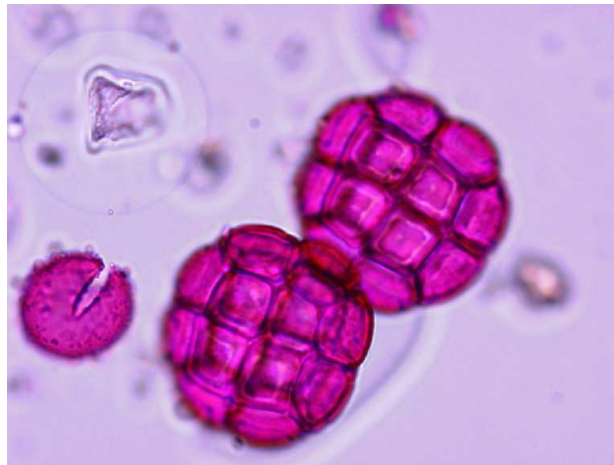
Trophallergènes : prise en charge limitée à 5 allergènes B55 par allergène

Ig E spécifiques pour certains allergènes :

B55 par allergène

Latex,
Venins d'hyménoptères
Médicaments (limité à 5)

Pollens d'acacia



Pollens de cyprès (Cupressus)



Les examens biologiques dans le diagnostic des maladies auto immunes

Les maladies auto immunes sont un ensemble d'affections assez polymorphes qui comprend des formes localisées à un seul organe (" spécifiques d'organes") aux formes systémiques touchant plusieurs viscères (" non spécifiques d'organe").

Chaque fois que l'interrogatoire et l'examen clinique d'un patient évoquent une maladie auto immune, la présence de certains anticorps permet de conforter le diagnostic.

Maladies auto immunes spécifiques d'organe :

♥ demander la recherche d'anticorps dirigés contre un constituant de cet organe

Foie

Cirrhose biliaire primitive :

Ac anti mitochondrie de type II

Hépatite auto-immune de type I :

Ac anti muscle lisse

Ac anti actine

Ac anti SLA

Hépatite auto-immune de type II :

Ac anti réticulum endoplasmique ou LKM

Ac anti cytosol : anti LCI

Estomac

Anémie de Biermer :

Ac anti facteur intrinsèque

Ac anti cellules pariétales

Pancréas

Diabète insulino-dépendant :

Ac anti ilots de Langerhans

Ac anti GAD

Ac anti insuline

Intestin

Maladie cœliaque :

Ac anti endomysium

Ac anti transglutaminase IGA

Maladie de Crohn :

Ac anti saccharomyces cerevisiae

Rectocolite hémorragique :

Ac anti cytoplasme des polynucléaires neutrophiles de type X ou p-ANCA

Thyroïde

Maladie de Basedow, Thyroïdite d'Hashimoto :

Ac anti récepteurs de la TSH

Ac anti TPO, Ac anti thyroglobuline

Système nerveux :

Myasthénie : Ac anti récepteurs de l'acétyl choline

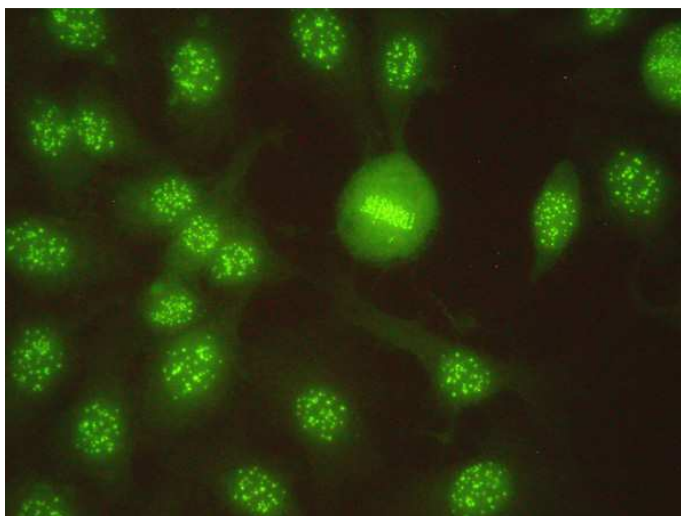
Neuropathies périphériques : Ac anti MAG, gangliosides

Syndromes paranéoplasiques : Ac anti Hu, Ri, Yo, amphiphysine, CV2...

Rein, Poumon :

Syndrome de Goodpasture : Ac anti membrane basale glomérulaire

Maladie de Wegener : Ac anti cytoplasme des polynucléaires (ANCA) de type PR3



Affections systémiques ou maladies non spécifiques d'organe :

- Demander la recherche des anticorps antinucléaires.

Tout résultat positif sera complété par la recherche des Ac anti antigènes nucléaires solubles et des Ac anti DNA natif.

Lupus érythémateux disséminé (LED) :

Ac anti-nucléaires
Ac anti DNA natif
Ac anti antigènes nucléaires solubles (ENA) : Sm, RNP, SSA
Ac anti ribosomes

Syndrome de Gougerot -Sjögren :

Ac anti nucléaires
Ac anti antigènes nucléaires solubles (ENA) : SSA, SSB

Syndrome de Sharp :

Ac anti nucléaires
Ac anti antigènes nucléaires solubles (ENA) : RNP

Polymyosite :

Ac antinucléaires
Ac anti antigènes nucléaires solubles (ENA) : Ac anti JO1, Ac anti Pm Scl

Sclérodermie systémique :

Ac anti nucléolaires
Ac anti antigènes nucléaires solubles (ENA) : Ac anti Scl 70

Syndrome de CREST :

Ac anti centromères

Syndrome des antis phospholipides :

Ac anti cardiolipine IgG
Ac anti Bêta 2 GP1
Lupus anticoagulant

Polyarthrite rhumatoïde :

Facteur rhumatoïde
Ac anti peptides citrullinés (Ac anti CCP)