

Novembre 2013

Sommaire :

- Spectrométrie de masse
- Contrôle glycémique du diabète de type 2
- Partenariat Néphrolim
- Identification des tubes pour groupe sanguin
- Ionogramme, attention fragile
- Chlamydia et gonocoque: dépistage combiné



Microbiologie: Biolyss se dote de la spectrométrie de masse

L'identification des bactéries pathogènes est essentielle pour confirmer une infection et choisir un traitement. Là comme ailleurs, les laboratoires de biologie médicale ont besoin de méthodes diagnostiques de plus en plus rapides et fiables.

Identifier un germe est chronophage: les résultats peuvent prendre 24 heures, voire davantage.

C'est pourquoi Biolyss a choisi l'automatisation de son plateau technique avec la mise en place d'une nouvelle technique d'identification, rapide, flexible, innovante et encore rare: **la spectrométrie de masse**.

La spectrométrie de masse est une technique analytique permettant

d'identifier les molécules et de caractériser leur structure chimique, par l'analyse de la masse et de la charge de leurs ions.

Elle peut fournir une identification du genre et de l'espèce d'un micro-organisme en quelques minutes.

Cette technique d'identification bactérienne permet des gains de temps très significatifs par rapport aux méthodes d'identification traditionnelles.

L'échantillon, déposé sur une lame, est illuminé par un laser. Les champs électriques séparent les ions selon leur masse et génèrent un spectre spécifique. En analysant les caractéristiques de ces fragments, il est possible d'en déduire la structure de la molécule.

Le Spectromètre compare le spectre de l'échantillon trouvé avec une banque de spectres de plus de 2000 bactéries.

Ceci permet une identification précise des espèces présentes dans l'échantillon biologique. L'identification donne un pourcentage de certitude (> 99%...) permettant de valider les résultats avec une grande fiabilité. Bien sûr, les méthodes traditionnelles restent utilisables en appui si besoin.

Avec déjà trois mois de recul, Biolyss a amélioré son délai de rendu (ECBU, plaies, hémocultures...) de près de 24 heures pour encore améliorer la prise en charge des patients.

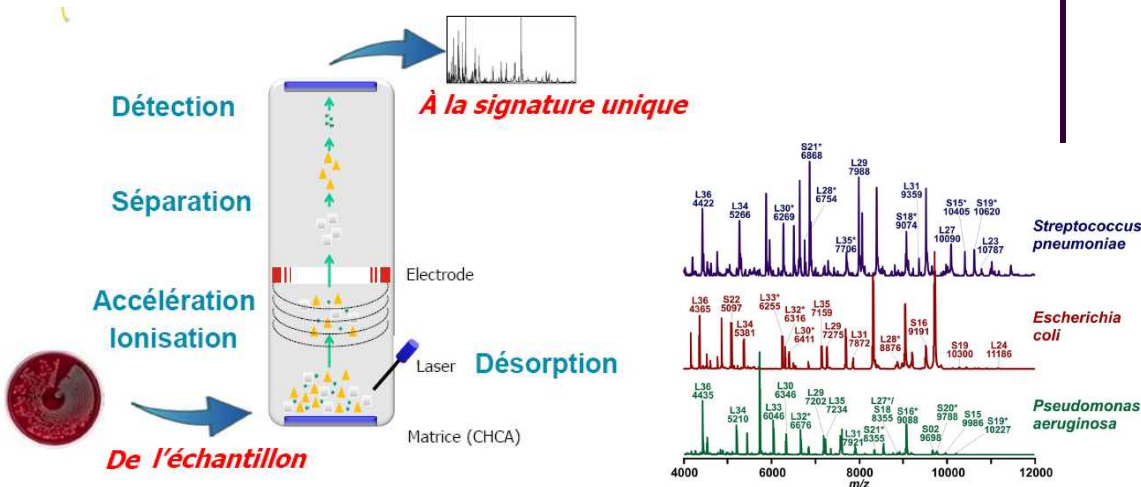


Figure 1: Principe de la spectrométrie de masse et exemples de spectres

Contrôle glycémique du diabète de type 2

L'objectif glycémique est à individualiser en fonction des patients

Le diabète de type 2 est défini par:

- une glycémie supérieure à 1,26 g/l (7,0 mmol/l) après un jeûne de 8 heures et vérifiée à deux reprises
- ou la présence de symptômes de diabète (polyurie, polydipsie, amaigrissement) associée à une glycémie (sur plasma veineux) supérieure ou égale à 2 g/l (11,1 mmol/l);
- ou une glycémie (sur plasma veineux) supérieure ou égale à 2 g/l (11,1 mmol/l) 2 heures après une charge orale de 75 g de glucose

Il provoque des complications micro- (rétinopathie, néphropathie, neuropathie) et macrovasculaires (IDM, AVC, artériopathie oblitérante des membres inférieurs), dont la prévention est l'un des objectifs à moyen/long terme d'un traitement bien conduit, à côté des mesures hygiéno-diététiques indispensables. Son objectif à court terme est l'amélioration des symptômes (soif, polyurie, asthénie, amaigrissement, flou visuel) et la prévention des complications aiguës (infectieuses et coma hyperosmolaire).

La HAS a publié en janvier 2013 des recommandations pour le contrôle de l'équilibre glycémique chez les patients diabétiques de type 2.

Elles insistent particulièrement sur l'individualisation de

l'objectif glycémique, qui doit maintenant être différencié en fonction du profil des patients.

Les messages clés sont les suivants:

- L'objectif glycémique doit être individualisé en fonction du profil des patients et peut donc évoluer au cours du temps.
- Pour la plupart des patients diabétiques de type 2, une cible d'HbA1c inférieure ou égale à 7 % est recommandée. Le traitement médicamenteux doit être instauré ou réévalué si l'HbA1c est supérieure à 7 %.
- Le diabète est évolutif et le traitement doit être réévalué régulièrement dans toutes ses composantes : mesures hygiéno-diététiques, éducation thérapeutique et traitement médicamenteux.
- La mise en place de mesures hygiéno-diététiques efficaces est un préalable nécessaire au traitement médicamenteux du contrôle glycémique.
- La stratégie médicamenteuse repose sur l'écart par rapport à l'objectif d'HbA1c, l'efficacité attendue des traitements, leur tolérance, leur sécurité et leur coût.
- La metformine est le médicament de première intention en monothérapie.
- L'association metformine + sulfamide est la bithérapie à privilégier.
- L'insuline est le traitement de choix lorsque les traitements

oraux et non insuliniques ne permettent pas d'atteindre l'objectif glycémique.

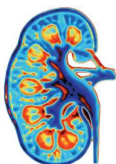
- L'instauration d'une insulinothérapie est l'objet d'une discussion avec le patient, et/ou son entourage, dans le cadre de l'éducation thérapeutique. Elle doit être accompagnée et idéalement précédée d'une autosurveillance glycémique et doit faire l'objet d'un apprentissage.
- Les femmes en âge de procréer doivent être informées de l'intérêt d'un bon contrôle glycémique avant et durant la grossesse afin d'améliorer le pronostic obstétrical.
- L'autosurveillance glycémique n'est recommandée que si les résultats sont susceptibles d'entraîner une modification des mesures hygiéno-diététiques et/ou du traitement médicamenteux.
- La réalisation systématique de l'autosurveillance glycémique chez les patients sous antidiabétiques ne provoquant pas d'hypoglycémie n'est pas recommandée.
- Le recours à un endocrinologue est recommandé en cas de difficulté pour fixer l'objectif glycémique ou pour l'atteindre.

Le tableau 1 (ci-contre) détaille les objectifs glycémiques en fonction du patient.



Partenariat entre le réseau Néphrolim et Biolys

Néphrolim (représenté par Madame le Professeur Marie Essig) et les Laboratoires Biolys depuis juillet 2007 ont défini ensemble les conditions de mise en place d'un partenariat afin d'organiser le dépistage des maladies rénales chroniques, chez des patients volontaires, à risque d'insuffisance rénale chronique. En pratique au laboratoire ou à domicile, si le patient volontaire répond



positivement à une des situations du questionnaire mis à disposition, il peut réaliser un dépistage gratuit de la maladie rénale chronique : calcul du ratio protéinurie sur créatininurie en mg/g, mesure de la leucocyturie et de l'hématurie par ml sur un échantillon d'urine recueillie après élimination du premier jet. Il n'a pas besoin d'être à jeun.

Le résultat du dépistage sera transmis au patient, au médecin traitant et au médecin coordinateur du réseau Néphrolim.

Cette campagne a déjà été menée en 2011 et a été très concluante. Grâce à ce partenariat, Les Laboratoire Biolys sont heureux de pouvoir proposer aux patients de participer à cette démarche de dépistage.

	Profil du patient	HbA1C cible (%)
Cas général	La plupart des patients	≤ 7
	DT2 nouvellement diagnostiqué, dont l'espérance de vie est > 15 ans et sans antécédent cardio-vasculaire	≤ 6.5 ¹
	DT2 : - avec comorbidité grave avérée et/ou une espérance de vie limitée (< 5 ans) - ou avec des complications macrovasculaires évoluées - ou ayant une longue durée d'évolution du diabète (> 10 ans) et pour lesquels la cible de 7 % s'avère difficile à atteindre car l'intensification médicamenteuse provoque des hypoglycémies sévères	≤ 8
Personnes âgées	Dites « vigoureuses » dont l'espérance de vie est jugée satisfaisante	≤ 7
	Dites « fragiles », à l'état de santé intermédiaire et à risque de basculer dans la catégorie des malades	≤ 8
	Dites « malades », dépendantes, en mauvais état de santé en raison d'une polyopathie chronique évoluée génératrice de handicaps et d'un isolement social	< 9 et/ou glycémies capillaires préprandiales entre 1 et 2 g/l
Patients avec ATCD cardio-vasculaires	Patients avec ATCD de complication macrovasculaire considérée comme non évoluée	≤ 7
	Patients avec ATCD de complication macrovasculaire considérée comme évoluée : - infarctus du myocarde (IDM) avec insuffisance cardiaque - atteinte coronarienne sévère (tronc commun ou atteinte tritrunculaire ou atteinte de l'interventriculaire antérieur [IVA] proximal) - atteinte polyartérielle (au moins deux territoires artériels symptomatiques) - artériopathie oblitérante des membres inférieurs (AOMI) symptomatique - accident vasculaire cérébral récent (< 6 mois)	≤ 8
Patients avec insuffisance rénale chronique (IRC)	IRC modérée (stades 3A et 3B) ²	≤ 7
	IRC sévère ou terminale (stades 4 et 5)	≤ 8
Patientes enceintes ou envisageant de l'être	Avant d'envisager la grossesse	≤ 6.5
	Durant la grossesse	≤ 6.5 et glycémies < 0,95 g/l à jeun et < 1,20 g/l en post-prandial à 2 heures

1: Sous réserve d'être atteint par la mise en oeuvre ou le renforcement des mesures hygiéno-diététiques puis, en cas d'échec, par une monothérapie orale (metformine, voire inhibiteurs des alphaglycosidases)

2: Stades 3A : DFG entre 45 et 59 ml/min/1,73 m², 3B : DFG entre 30 et 44 ml/min/1,73 m², stades 4 : entre 15 et 29 ml/min/1,73 m² et 5 : < 15 ml/min/1,73 m².

Tableau 1: Objectifs glycémiques en fonction du patient

Identification des prélèvements pour groupe sanguin

La législation nous impose une identification parfaite avant de réaliser et d'éditer une carte de groupe sanguin.

Deux prises de sang à deux moments différents sont indispensables pour valider une carte complète.

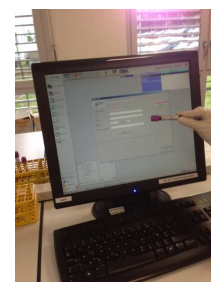
Il faut de manière obligatoire

une écriture MANUSCRITE à même le tube, spécifiant en lettres majuscules les nom, nom de jeune fille, prénom et date de naissance du patient.

Attention, pour des raisons évidentes de sécurité transfusionnelle, la moindre erreur, le moindre quiproquo,

nous obligent à refuser le prélèvement et à exiger un contrôle.

Le préleveur est le seul lien entre le patient et notre validation biologique, sa rigueur est notre atout.



Comité de rédaction:

Corinne Aupetit
(c.aupetit@biolyss.fr)

Sylvie Maach-Barbarie
(s.maach@biolyss.fr)

Fabienne Ponson
(f.ponson@biolyss.fr)

Eric Sevin
(e.sevin@biolyss.fr)

Et les autres biologistes de Biolyss

**Ionogramme:
Attention aux
variations de
température**



Ionogramme plasmatique: attention fragile !

Le dosage des principaux électrolytes sanguins et urinaires fait partie du dépistage et de la surveillance de l'équilibre acidobasique, des états d'hydratation, de certaines pathologies, essentiellement rénales et hépatiques.

Définition : Le ionogramme représente la composition ionique d'un secteur hydrique et la somme des anions et des cations est une constante.

Intérêt : Les troubles de l'hydratation nécessitent l'exploration des ions les plus importants quantitativement: sodium (Na⁺), Potassium (K⁺) et chlorure (Cl⁻) parfois associés au dosage plasmatique des bicarbonates et des protéines ;

Le sodium est le principal cation intracellulaire. Il permet le maintien de la pression osmotique et l'équilibre acidobasique. Il représente un facteur important de l'hydratation tissulaire (l'eau suit le sodium).

Le potassium est le principal cation intracellulaire. Il assure le maintien de l'osmolarité des cellules et intervient dans la transmission de l'influx nerveux.

Principe de la méthode de dosage: La plupart des techniques de dosage utilisent des électrodes sélectives.

Conditions préanalytiques :
Les dosages sont effectués sur

sérum ou plasma ; l'héparinate de lithium est l'anticoagulant conseillé. Lors du traitement des échantillons le sérum ou le plasma doivent être rapidement séparés des globules rouges ou plaquettes. Le transport au laboratoire doit se faire à température ambiante dans la demi journée: il faut éviter les chocs thermiques, malheureusement trop fréquents en hiver.

Le prélèvement doit être rapidement centrifugé, afin d'éviter les échanges cellulaires-plasma. Seuls les échantillons non hémolysés peuvent être exploités.

En pratique : un ionogramme effectué à domicile est-il possible ?

Oui, si les conditions préanalytiques sont respectées. Si ce n'est pas le cas, une mention de réserve avec un index d'hémolyse apparaît sur le compte rendu ; un contrôle au laboratoire sera proposé.

Nous déplorons malheureusement, en hiver, beaucoup d'hyperkaliémies liées à des conditions de conservation mal contrôlées, avant que le laboratoire ne prenne en charge le prélèvement.

Eviter le garrot doit il être préconisé ? : éviter la stase veineuse contribue à limiter l'hyperkaliémie, mais il n'est pas toujours possible de réaliser un prélèvement sans garrot.

Le délai d'acheminement au

laboratoire et l'évitement des chocs thermiques sont dans tous les cas les facteurs de variation les plus importants.

Et le potassium décanté ? : La décantation des plasmas sur tube hépariné en vue de réaliser des Kaliémies n'est pas validé par Biolyss.

En effet, cet acte multifactoriel n'est pas accréditable pour les raisons suivantes :

- Le délai de « sédimentation » des hématies n'est pas standardisable (c'est le reflet d'une Vitesse de Sédimentation, variable selon les patients...). Seule une centrifugation programmée et reproductible est opposable à l'accréditation : 15 mn à 2500g.

- La quantité d'hématies laissées en suspension et aspirée dans le plasma n'est pas quantifiable, elle reste source d'erreur en cas d'hémolyse.

- La manipulation du sang par des Infirmiers non habilités par Biolyss entraîne un risque élevé d'AES

- Une erreur d'identification reste possible lors de la décantation du plasma hépariné vers le tube secondaire

Enfin, aucun article ou publication ne permet à ce jour de valider cette technique.

Chlamydia trachomatis et Neisseria gonorrhoeae: un dépistage combiné

Depuis le 1^{er} juillet 2013, les laboratoires Biolyss ont changé de technique de recherche des *Chlamydiae* sur les prélèvements génitaux ; désormais nous avons choisi la solution du Test Aptima COMBO2 sur l'automate PANTHER. Il s'agit d'un test d'amplification génique de l'ARN ribosomal qui nous permet, sur un même prélèvement, d'effectuer la recherche combinée de

Chlamydiae trachomatis et *Neisseria gonorrhoeae*.

Ce test peut être employé pour analyser les échantillons suivants, prélevés sur un milieu de transport APTIMA, provenant d'individus symptomatiques ou non: Echantillons endocervicaux, vaginaux et urétraux (collectés par un biologiste médical au laboratoire, ou encore au cabinet médical), échantillons d'urine féminins et masculins

(premier jet urinaire)

De plus Biolyss met à disposition des cliniciens, des dispositifs de prélèvement permettant la collecte des échantillons directement par la patiente (système d'autoprélèvement) ce qui offre une option de dépistage chez les femmes lorsqu'un examen pelvien s'avère irréalizable.