

Quelques nouveautés et bonnes pratiques en Biologie Médicale

Dr Eric Sevin, Biologiste Médical

Groupe Biolyss




www.laboratoirestbiolyss.fr

www.biolyss.fr/spip.php?rubrique3

Présentation **Laboratoires** Informations patients Assurance qualité Contacts Résultats d'analyses


LABORATOIRES



8 laboratoires d'analyses médicales en Limousin...

Cliquez sur le laboratoire d'analyses médicales de votre choix et accédez aux informations utiles le concernant (coordonnées, horaires d'ouverture, nom des biologistes...)

- A Limoges**
 - 1 Laboratoire Carnot-centre →
 - 2 Laboratoire Garibaldi →
 - 3 Laboratoire Louis Blanc →
 - 4 Laboratoire du Roussillon →
 - 5 Laboratoire Saint-Lazare →
- A Bellac**
 - 6 Laboratoire de Bellac →
- A Guéret**
 - 7 Laboratoire de Guéret →
- A La Souterraine**
 - 8 Laboratoire de La Souterraine →



biolys - nous contacter

www.biolys.fr/spip.php?rubrique6

CONTACTS

Ecrivez-nous

* Informations obligatoires

* Laboratoire contacté: Laboratoire Carnot-centre

* Civilité: Mlle

* Votre nom: _____

Votre nom de jeune fille: _____

Votre prénom: _____

Votre adresse postale: _____

Code postal et ville: _____

Votre téléphone: _____














* Votre e-mail: _____

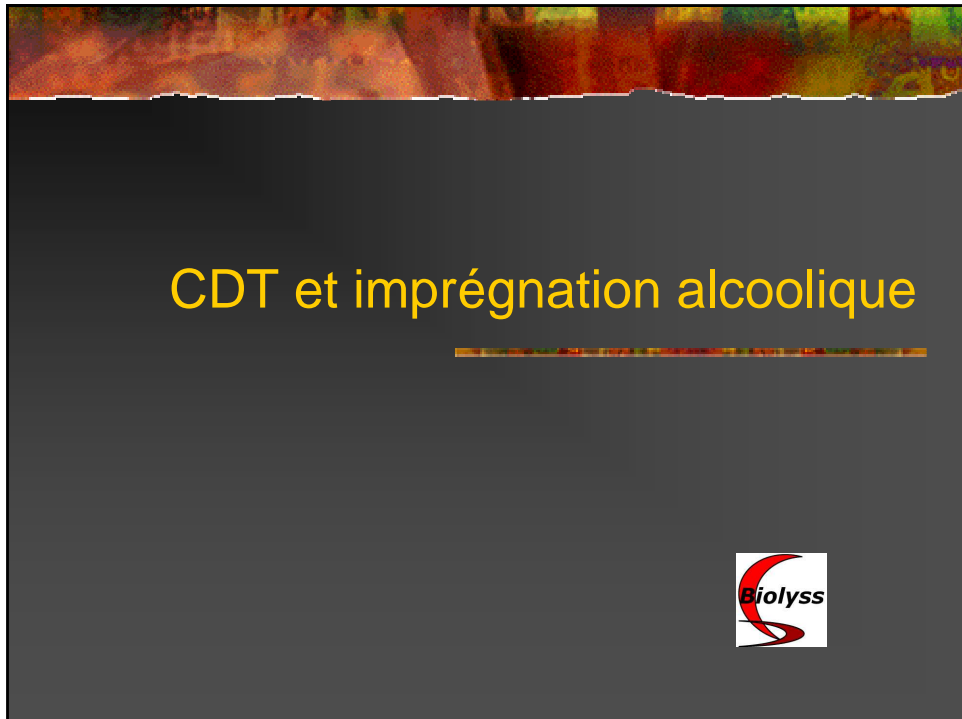
* Votre message: _____

En conformité avec les dispositions de la loi Informatique et Liberté, vous disposez d'un droit de consultation, de rectification et de retrait et des données personnelles. Pour exercer, contactez BIOLYS via ce formulaire.


Envoyer >

Les biologistes Biolys

<p>Corinne AUPETIT</p>  <p>c.aupetit@biolys.fr</p>	<p>Xavier BALAYOINE</p>  <p>x.balavoine@biolys.fr</p>	<p>Brigitte DAVID</p>  <p>b.david@biolys.fr</p>
<p>Jean-Michel FILLOUX</p>  <p>jm.filloux@biolys.fr</p>	<p>Isabelle LENOIR</p>  <p>i.lenoir@biolys.fr</p>	<p>Sylvie MAACH-BARBARIE</p>  <p>s.maach@biolys.fr</p>
<p>Denis MARS</p>  <p>d.mars@biolys.fr</p>	<p>Thierry MENARD</p>  <p>t.menard@biolys.fr</p>	<p>Lionel MORELET</p>  <p>l.morelet@biolys.fr</p>
<p>Thierry NICOT</p>  <p>t.nicot@biolys.fr</p>	<p>Bernard NIOCEL</p>  <p>b.niocel@biolys.fr</p>	<p>Jean-François PEROTTO</p>  <p>jf.perotto@biolys.fr</p>
<p>Fabienne PONSON</p>  <p>f.ponson@biolys.fr</p>	<p>Eric SEVIN</p>  <p>e.sevin@biolys.fr</p>	



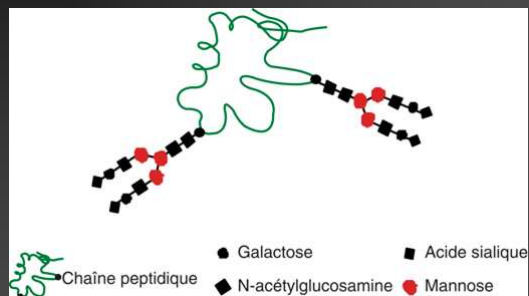
CDT et imprégnation alcoolique



Transferrine

- Transferrine, glycoprotéine présente dans le plasma et de synthèse hépatique.
- Comporte de nombreuses isoformes, de composition variable en résidus glucidiques, en particulier acide sialique.
- Physiologiquement: on retrouve surtout des formes penta et tétrasialylées

Schéma de la transferrine



CDT: définition

- La somme des isoformes à 2, 1 et 0 acides sialiques est appelée CDT = carbohydrate déficient transferrin (ou transferrine désialylée)
 - L'acide sialique étant un sucre acide, sa perte rend la protéine moins acide, et modifie son point isoélectrique, propriété utilisée pour son dosage (CDT= protéines dont le pI >5.7)
-

CDT: définition (2)

- La méthode de dosage la plus performante est l'électrophorèse capillaire (séparation des analytes en fonction de leurs taille et charge, sous l'action d'un champ électrique d'électroendosmose)
 - Les résultats sont exprimés en % de la somme des formes à 0, 1 et 2 acides sialiques, par rapport à la somme de l'ensemble des fractions.
 - Ce mode d'expression permet de s'affranchir des variations physiopathologiques de la transferrine
-

Intérêt en pathologie

- Alcoolisme chronique → modification de la répartition des isoformes sialylées
 - Augmentation relative des fractions hypo ou désialylées
 - Au détriment des formes tétra ou pentasialylées
 - Mais la concentration de transferrine totale reste normale
- Marqueur d'atteinte hépatique chronique liée à la consommation chronique d'alcool à forte dose
- Effet seuil à 60-80 g d'alcool/j (=6-8 verres). Augmentations moins franches en dessous.
- Les variations sont le reflet d'une situation cumulée, et non instantanée
- La désialylation étant réversible, le CDT est intéressant dans le sevrage

CDT, marqueur de consommation alcoolique

- Le meilleur outil diagnostique d'une consommation excessive et prolongée d'alcool
- Plus spécifique que GGT et VGM, soumis à d'autres causes de variation

CDT, marqueur de consommation d'alcool

- Taux pathologique (>1.7%)
 - apparaît dès 1-2 semaines de consommation excessive
 - GGT: 3 semaines
 - VGM: 1 mois
 - Sevrage
 - CDT redevient normal à 2-4 semaines
 - GGT: 2 mois
 - VGM: 3 mois
-

CDT, marqueur de consommation d'alcool

- Rares faux positifs
 - Anomalie génétique rare (variants)
 - Insuffisance hépatique sévère, carcinomes, VHC
 - Mais la spécificité reste > 90%
-

CDT, marqueur de consommation d'alcool

- Biolyss réalise le dosage 2 fois par semaine, par électrophorèse capillaire
 - Sur sérum (Tube sec à bouchon rouge ou jaune)
 - Remboursé. Cotation B55 soit 14.85 €
-



Bilan martial



Le fer en physiologie

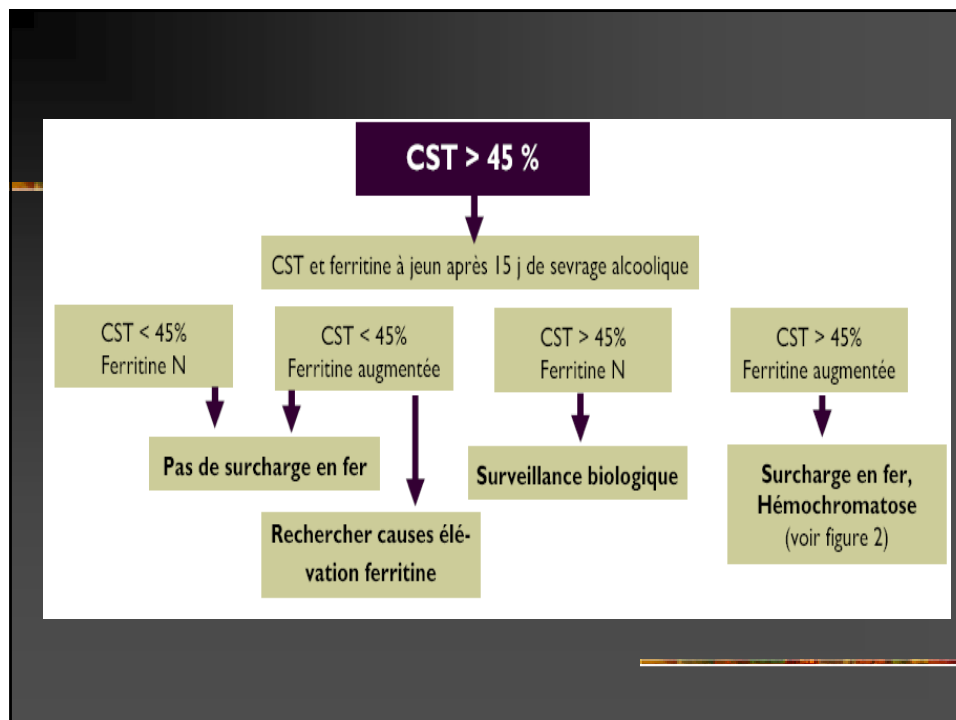
- **TRANSPORT:** par la transferrine. Un récepteur à la transferrine est largement présent dans de nombreux tissus (notamment précurseurs érythroïdes de la moelle osseuse). C'est grâce à lui que les cellules peuvent internaliser le fer nécessaire à leurs besoins. Saturée à 30% physiologiquement (pas de fer circulant non lié).
- **STOCKAGE:** principalement ferritine, de localisation surtout intracellulaire (foie, rate) mais aussi circulante. Hémosidérine à moindre degré
- **REGULATION:** hepcidine. Puissante action hyposidérémiant en inhibant l'export de fer des entérocytes et des macrophages. Responsable de la grande majorité des désordres du métabolisme du fer. (Hémochromatoses ← carence en hepcidine, due à atteinte du gène de l'hepcidine ou de gènes impliqués dans sa synthèse).

L'inflammation: un vrai gêneur...

- Cytokines inflammatoires → hyperferritinémie (non liée à augmentation des stocks de fer)
- Hepcidine → stockage du fer dans les macrophages
- On observe donc le tableau habituel avec:
 - Fer sérique bas
 - Saturation basse
 - Ferritinémie normale ou élevée
 - CRP et VS augmentées...

Fer et saturation

- Le fer n'a AUCUN intérêt isolément. Il faut doser la transferrine pour calculer le CST (N=20-40%)
 - CST > 45%: surcharge en fer avec une bonne fiabilité (hémochromatoses génétiques et surcharges acquises (apport excessif, syndrome métabolique, maladies chroniques du foie, maladies hématologiques)).
 - CST abaissé: carence en fer ou maladies inflammatoires. Mais faibles sensibilité et spécificité pour le diagnostic de carence martiale.



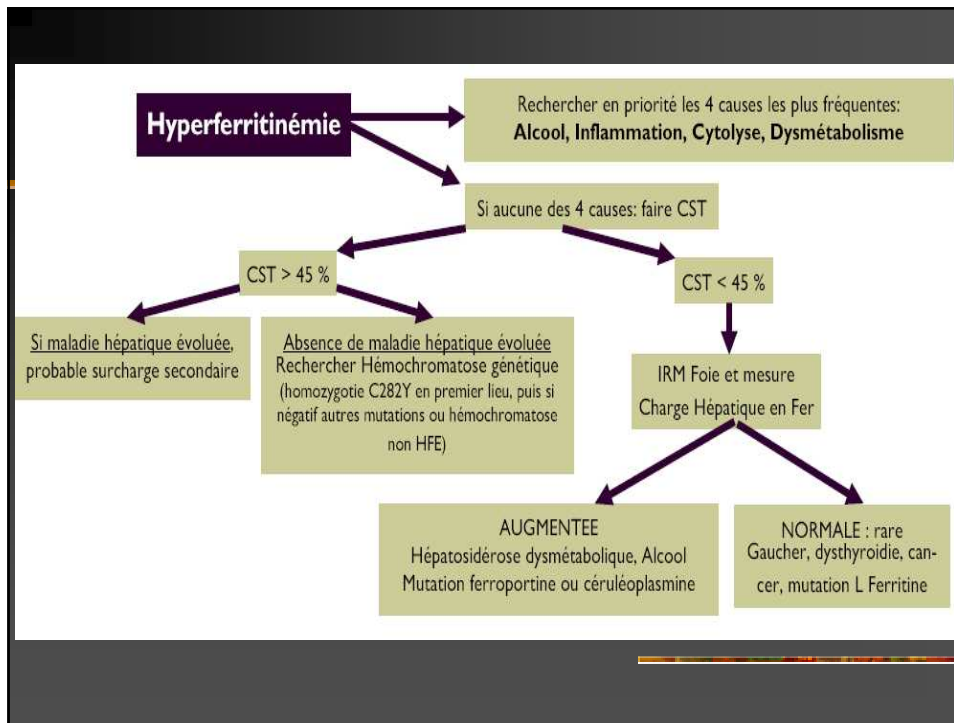
Ferritine

■ INCONTOURNABLE

- Abaissee: = OBLIGATOIREMENT carence martiale. Attention aux taux normaux en cas de cause associée d'hyperferritinémie. Une ferritine N ou augmentée n'élimine pas le diagnostic de carence (mais peu probable > 200 µg/l)
- Augmentée: nombreuses circonstances (inflammation → doser CRP conjointement. Si CRP < 30 mg/l, influence de l'inflammation négligeable; impact au delà)
- NB: Traitement de surcharges par saignées: obtenir < 50 µg/l sans anémie

Causes d'hyperferritinémie

Causes d'hyperferritinémie	Examens utiles
Syndrome inflammatoire	CRP, VS
Cytolyse (hépatique, hémolyse, médullaire, musculaire)	Transa, NFS, rétic, bilirubine, CPK
Alcoolisme	Test de sevrage
Syndrome dysmétabolique	Lipides, glycémie
Hyperthyroïdie	Bilan thyroïdien
Tumeurs malignes, maladies onco-hémato	
Maladie de Gaucher	Activité b-glucocérébrosidase leucocytes
Syndrome héréditaire cataracte-hyperferritinémie	Génétique



Comment évaluer la composante ferriprive d'une anémie en contexte inflammatoire ?

- Utiliser de « nouveaux marqueurs »
 - Ferritine érythrocytaire
 - Récepteur soluble de la transferrine
- Quelle conduite tenir ?

Ferritine érythrocytaire

- N'est pas influencée par les états inflammatoires.
- Dosage nécessite une étape de prétraitement, plus complexe que la ferritine totale, qui limite son utilisation.
- Utile pour les diagnostics difficiles
- Abaissée ← états carenciels,
- Augmentée ← surcharge martiale

Récepteur soluble de la transferrine (RsTf)

- Le récepteur de la transferrine (RTf) est présent à la surface des érythroblastes notamment. Mais une faible proportion est relarguée dans la circulation, le RsTf.
- Carence en fer → stimulation synthèse du RTf
- Surcharge → répression synthèse RTf
- Variations parallèles du RsTf
- RsTf = bon témoin des variations du métabolisme du fer
- Non influencé par les états inflammatoires
- Bon candidat pour évaluer la composante ferriprive des anémies inflammatoires.

Et l'hepcidine?

- Pas (encore) en routine
- Augmentée: surcharges en fer non génétiques, inflammation
- Diminuée: carence martiale, d'érythropoïèse accélérée, hypoxie, hémochromatose génétique.

En pratique: quel bilan martial en contexte inflammatoire ?

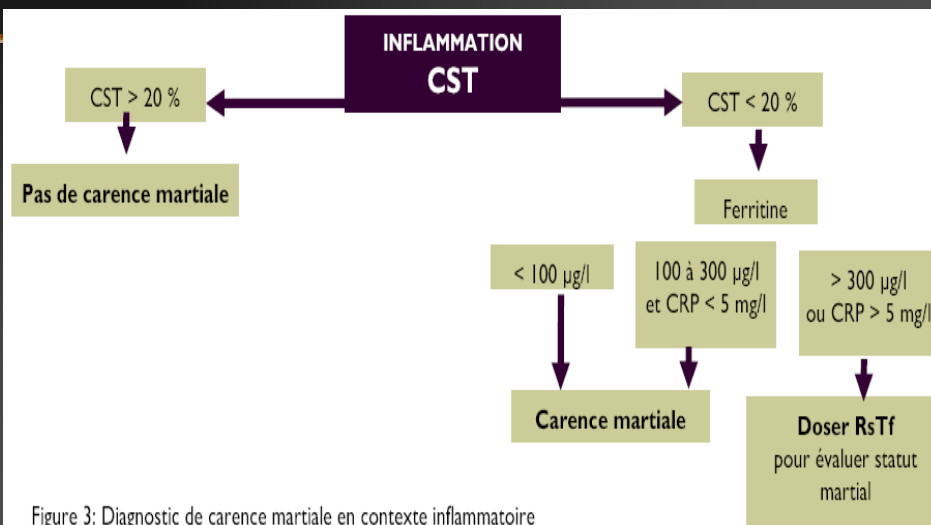


Figure 3: Diagnostic de carence martiale en contexte inflammatoire

Polyarthrite rhumatoïde: l'apport de la biologie



Polyarthrite rhumatoïde

- La PR est le rhumatisme inflammatoire chronique le plus fréquent chez l'adulte. Prévalence en France: 0,3%
 - Intérêt du diagnostic précoce car un traitement de fond institué précocement peut contrôler l'activité de la maladie et freiner l'atteinte structurale
 - La décision de mise en route du traitement repose sur
 - le degré d'activité évalué par l'intensité du syndrome inflammatoire (VS, CRP),
 - l'existence d'érosions osseuses
 - et la présence dans le sérum de FR et d'Ac anti CCP
 - Etiologie multifactorielle
 - Facteurs endogènes: HLA, hormonaux (grossesse)
 - Facteurs exogènes: tabac, facteurs environnementaux (germes), psychologiques (choc déclenchant)
-

PR: rappel clinique

- **Pathologie:**
 - polyarthrite bilatérale généralement symétrique caractérisée par une raideur matinale (poignets, interphalangiennes, métacarpophalangiennes, métatarsophalangiennes).
 - Evolution par poussées.
 - Phase d'état: atteintes articulaires de mains (déformations caractéristiques) , des poignets, des pieds. Toutes les autres articulations synoviales peuvent être touchées.
 - Atteintes extra-articulaires (altération de l'état général, nodules rhumatoïdes, adénopathies superficielles, atteintes cardiaques, rénale, pulmonaires, oculaires...)

Diagnostic de la PR

- **Critères radiologiques**
 - Images radiologiques typiques d'érosion
 - Mais diagnostic tardif car seulement au stade où l'érosion est déjà observable
- **Critères cliniques**
 - Douleurs articulaires plutôt bilatérales et symétriques,
 - Articulations chaudes et gonflées
 - Raideur matinale
 - Mais ces symptômes ne sont pas spécifiques de la PR (diagnostic différentiel: polyarthrite bactérienne, arthrite réactionnelle (post infectieuse), connectivite (lupus...), maladie de Horton...)
- **Critères biologiques**
 - Syndrome inflammatoire avec augmentation de la CRP et de la VS
 - Marqueurs sérologiques de la PR: FR et Ac anti CCP

Facteurs rhumatoïdes (1)

- = auto anticorps de classe IgM, polyclonaux, dirigés contre le fragment Fc des IgG humaines et animales
- Terminologie:
 - FR= facteur rhumatoïde=IgM anti IgG
 - Latex et Waaler Rose= noms de technique passés dans le langage courant pour désigner le FR, mais qui sont des techniques historiques d'agglutination sur lame (particules de latex sensibilisées par des IgG humaines, hématies de mouton sensibilisées par des IgG de lapin)
 - Pour ces techniques anciennes:
 - Latex: sensibilité 70% , spécificité 80%
 - WR: sensibilité 60%, spécificité 85%
 - = performances insuffisantes...

Facteurs rhumatoïdes (2)

- Les nouvelles techniques = ELISA ou néphélemétrie
 - Sensibilité et spécificité 85%
- La présence de FR ne signifie pas PR:
 - Nombreuses pathologies auto immunes, inflammatoires, infectieuses: Gougerot-Sjögren (70%), LES (25-40%), sclérodémie (20-30%), PAN (10-20%), maladie auto immune du foie (10-50%), cryoglobulinémie mixte (100%), endocardite infectieuse (30-50%), leishmaniose (50-80%), hépatite C chronique (50-75%), syphilis (15-25%), infections virales (EBV...: 20-60%)
 - Mais aussi sujets sains: 1% avant 30 ans, 5% de 30 à 65 ans, 15% après 65 ans

Anticorps anti CCP: définition

- = anticorps anti peptides cycliques citrullinés
 - Plusieurs auto anticorps appartiennent à cette famille: anti périnucléaires (1964), anti kératine (1979), anti filaggrine (1990)
 - Sous l'influence de la PAD (peptidyl-arginine-désiminase), présente dans les synoviocytes et les cellules inflammatoires, l'arginine des peptides des chaînes α et β de la fibrine et du fibrinogène est oxydée en citrulline. Cette réaction est hétérogène et dépend du groupe HLA et du type de PAD. Ces peptides modifiés sont les cibles antigéniques véritables de la réaction immunologique et entretiennent l'inflammation locale. Ils sont la cause de la maladie rhumatologique.
-

Anticorps anti CCP: définition (2)

- Utile au diagnostic de la polyarthrite rhumatoïde, à côté du facteur rhumatoïde
 - Aussi sensible que le FR
 - Mais **beaucoup plus spécifique (spécificité 99%)**
 - Bonne valeur prédictive de PR, apparaissent avant les symptômes cliniques
-

Anticorps anti CCP: leur intérêt

- Coexistence Ac anti CCP + FR
 - Hautement prédictive de PR
 - Corrélé au développement ultérieur d'érosions osseuses
 - Parcontre:
 - Taux non corrélé à la gravité de la maladie
 - Pas utile pour suivre la réponse au traitement
-

Anticorps anti CCP

- Biolyss les réalise tous les deux jours
 - Sur Sérum (tube sec (bouchon rouge ou jaune))
 - Remboursé. Cotation B60, soit 16.20€
-



Virus HPV



Virus HPV

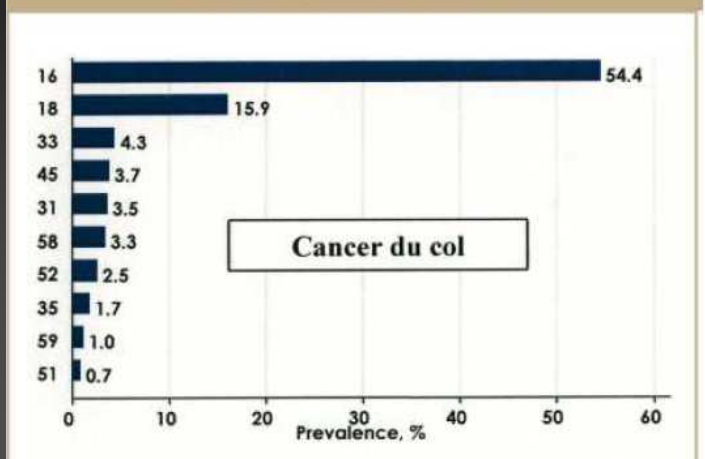
- Les papillomavirus humains (HPV) sont épithéliotropes (peau, muqueuses)
- Transmission interhumaine par contact direct. Les HPV à localisation génitale sont transmis par voie sexuelle
- Sont la cause la plus fréquente des IST
 - incidence annuelle de l'ordre de 30% /an chez les jeunes adultes
 - Prévalence du portage cervical de l'ordre de 30% à 20-25 ans, plus faible ensuite
- Selon le génotype
 - à bas risques (6, 11) → lésions bénignes muqueuses (condylomes, papillomes, verrues...)
 - à haut risque sont associés au cancer du col dans 100% des cas: HPV 16 (+++) et 18

HPV haut et bas risques

Tableau 3 - Répartition des différents génotypes de papillomavirus humains (HPV) muqueux en fonction de leur potentiel oncogène

Potentiel oncogène	Génotype
À bas risque	6, 11, 40, 42-44, 54, 61, 70, 72, 81, 89, CP6108
À haut risque	16, 18, 26, 31, 33, 35, 39, 45, 51-53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82

Figure 2 – Prévalence à l'échelle mondiale des 10 HR-HPV les plus fréquents chez les femmes présentant un cancer du col, des lésions de haut grade, des lésions de bas grade, ou une cytologie normale.



Potentiel oncogène

- Rôle étiologique parfaitement établi pour le cancer du col utérin
 - La plupart des cancers de la marge anale et du vagin sont également associés à HPV
 - Et une partie des cancers de la vulve, du pénis, de l'oropharynx, et vraisemblablement certains cancers cutanés et de la conjonctive
-

Test HPV: le cancer de l'utérus est il fréquent ?

- Deuxième cancer féminin à l'échelle mondiale (500 000 nouveaux cas/ans, 275 000 décès)
 - Le cancer est dû à un virus HPV dans quasi 100% des cas
 - Cancer évitable grâce au dépistage régulier
-

Test HPV: Qui est concerné par HPV?

- 3 femmes sur 4 au cours des premiers rapports
- Le virus est éliminé par système immunitaire dans la majorité des cas
- Signes d'appel: crêtes de coq, condylomes, mais lésions silencieuses+++
- Possibilité de transformer les cellules du col de l'utérus si HPV à haut risque
- Hommes: réservoirs de virus mais ne développent pas de cancer

Test HPV: prévention

- La prévention: double examen frottis+test HPV
- Le test HPV détecte la présence de HPV à haut risque par biologie moléculaire.
Sensibilité >95% (sonde détectant l'ADN des types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59 et 68)
- Association [test HPV+Frottis]: sensibilité proche de 100%

HPV: vaccination prophylactique

- Deux vaccins existent: Gardasil et Cervarix:
 - Dirigés contre HPV 16 et 18; et aussi 6 et 11 pour Gardasil (condylomes génitaux, papillomes laryngés)
 - Trois doses: 0, 2, 6 mois
 - Recommandation actuelles: vaccination des jeunes filles de 14 ans avec un rattrapage de 15 à 23 ans si activité sexuelle datant de moins d'un an
 - Vaccination thérapeutique à l'étude → stimuler le système immunitaire pour qu'il cible les protéines virales et empêche le développement des lésions
-

Test HPV

- Le test HPV est réalisé par le laboratoire Biolyss
 - Il est remboursé dans le cas d'un frottis ambigu
 - Son tarif est de 37.80 €
-



Amylase ou Lipase ?



Pancréatite aiguë?

- La biologie aide au diagnostic en dosant les enzymes pancréatiques
 - Laquelle faut il doser ? Amylase ou Lipase?
 - Les deux enzymes sont elles équivalentes ?
 - Quels sont les seuils décisionnels?
-

Amylase

- Sécrétée par le pancréas **mais aussi par les glandes salivaires**
 - Elle hydrolyse l'amidon.
 - Sa spécificité dans le diagnostic de pancréatite **n'est pas bonne**.
 - Une augmentation **> 3N** est considérée significative.
-

Lipase

- d'origine **essentiellement pancréatique**,
 - libérée par le tractus digestif pour la digestion des lipides.
 - Sa **spécificité dans le diagnostic de pancréatite est bonne**
 - Une augmentation **> 3N** dans les 48h suivant les symptômes associée à une douleur abdominale aiguë évocatrice **suffit** à confirmer le diagnostic de pancréatite aiguë.
-

Les cinétiques sont différentes

	<i>Augmentation</i>	<i>Pic</i>	<i>Normalisation</i>
LIPASE	4 à 8 heures	24 heures	8 à 14 jours
AMYLASE	2 à 12 heures	48 heures	3 à 5 jours

L'amylase n'a pas d'intérêt dans l'indication de pancréatite aigue

- La lipase atteint son pic sanguin plus rapidement que l'amylase, et sa cinétique d'élimination est plus lente: la lipasémie, contrairement à l'amylasémie, peut donc détecter une pathologie pancréatique dans sa phase tardive
- Lorsque la lipasémie est normale, il n'a jamais été observé d'amylasémie élevée en cas de pancréatite
- La sensibilité de l'amylasémie est faible pour les pancréatites alcooliques et hypertriglycéridémiques
- Sa spécificité est faible: de nombreuses affections non pancréatiques associent douleurs abdominales et hyperamylasémie

→ En cas de prescription d'amylase, seule la lipase est dosée.
Amylase déremboursée (prescription motivée nécessaire)

A retenir

- 1. La lipasémie a une efficacité diagnostique supérieure à celle de l'amylasémie pour le diagnostic de pancréatite aiguë
 - 2. Le diagnostic d'une pancréatite aiguë est établi en présence d'un tableau clinique évocateur et d'une élévation de la lipasémie $> 3N$
 - 3. En cas de lipase $< 3N$, il faut tenir compte du délai écoulé entre le début des signes cliniques et le dosage de lipase
 - 4. Le diagnostic est à réaliser le plus tôt possible, idéalement $< 48h$
 - 5. L'association des 2 dosages amylase et lipase n'apporte rien par rapport à la lipase seule
-



Merci de votre attention

Groupe Biolyss