



FMC Grasse

22 mai 2014

Guillaume Armana
Jean-Marc Dubertrand
Adrien Nedelec

1

Evolution de la Biologie Médicale

Jean-Marc Dubertrand

I. Dépenses de santé

- 214,7 Md€ de dépenses de santé (210,3 Md€ en 2011) dont 184 Md€ en dépenses de soins et biens médicaux
- Amélioration de la branche maladie du régime général de la santé en 2011 : - 5,9 Md€ (contre 8,6 Md€ en 2011)
- **Dépenses de Biologie : 7,2 Md d'€**
- **Biologie médicale libérale :**
 - ✓ **2,4% des dépenses de soins et de biens médicaux** et 9,66 % des dépenses de santé « de ville »
 - ✓ cout annuel en 2012 de 4,7 Md€ dont 3,4 Md d'€ remboursés par les Caisses
- 46% des dépenses sont générées par les plus de 60 ans (nombre 15% en 2013, 17,3 % en 2020)
- Financement à 71% par la Sécurité Sociale (25,3% par les mutuelles/Assurances/prévoyances)
- 56% des dépenses de biologie médicales sont liées à des prescriptions de médecins généralistes, suivis par les gynécologues (9,8%), les anesthésistes (4,1%) et les chirurgiens (3,6%)

II. Biologie et NABM



L'activité de Biologie médicale en France

- 70% Privé
- 30% Public (4,1 Md d'€ de dépenses remboursables secteur Privé)
- En 2008 : 11 000 Biologistes (60% en Ville, 40% Etablissements de soins)
- Actuellement 8 000 Biologistes (80% Pharmaciens, 20% Médecins)
- En 2010, il y avait 3 900 laboratoires privés (dont 130 dans les Alpes-Maritimes) sur la France, contre 400 en Allemagne. En 2012 on est passé en France à 1 700 LBM, la prévision pour 2016 est de 800 LBM. Le nombre de « site » par contre n'a pas bougé.

NABM

- Elle comprend à peu près 1 000 actes répartis en 18 chapitres (examens de biologie et actes plus généraux comme le forfait de sécurité ou le forfait de prise en charge pré-analytique). Chaque acte est défini par un code, un libellé, un coefficient, et diverses conditions de prise en charge, qui peuvent être de nature médicale ou technique (groupes sanguins par exemple)
- **La profession subit des baisses de nomenclature chaque année**, la dernière en date du 13 avril 2014 (baisse de CA de 3,2%).

III. Evolution des dépenses

Dépenses remboursables de Biologie Médicale

Année	Evolution des dépenses	Taux d'inflation	Evolution des dépenses hors inflation	Evolution de l'ONDAM exécuté hors inflation
2004	5,4 %	2,1 %	3,3 %	2,9 %
2005	4,2 %	1,8 %	2,4 %	1,9 %
2006	3,8 %	1,6 %	2,2 %	3,4 %
2007	3,0 %	1,5 %	1,5 %	2,7 %
2008	2,5 %	2,8 %	- 0,3 %	0,7 %
2009	2,0 %	0,1 %	1,9 %	3,3 %
2010	2,3 %	1,5 %	0,8 %	0,8 %
2011	2,2 %	2,1 %	0,1 %	0,8 %
2012	-1,1 %	2,0 %	- 3,1 %	0,2 %

Source : caisse nationale d'assurance maladie des travailleurs salariés (CNAMTS), institut national de la statistique et des études économiques (INSEE) pour le taux d'inflation, Cour des comptes pour l'évolution de l'ONDAM exécuté

IV. Evolution règlementaire

- **Loi de 1975 réglementant l'exercice de la Biologie** (normes de surface, de matériel, de personne, etc...)
- **Décembre 1990** : possibilité de réaliser des SEL (5 laboratoires max. réunis dans une SEL, 25% du capital max détenu par des personnes extérieures à la profession)
- **Novembre 1999** : arrêté relatif a la bonne exécution des analyses de Biologie Médicale (**GBEA**)
- **Décembre 2001 : Loi MURCEF** « *mesures urgentes de réformes à caractère économique et financier* », non spécifique à la biologie, ouvre la possibilité pour les SEL d'avoir 99% de leur capital non détenu par les biologistes exerçant dans la SEL
(Art. 5-1. - Par dérogation au premier alinéa de l'article 5, plus de la moitié du capital social des sociétés d'exercice libéral peut aussi être détenue par des personnes physiques ou morales exerçant la profession constituant l'objet social ou par des sociétés de participations financières de professions libérales régies par le titre IV de la présente loi)
- **2005** : Création des premiers réseaux (LABCO) et arrivée de laboratoires étrangers (Unilabs)
- **Avril 2006 : Rapport de l'IGAS de F. Lalande** « *Biologie Médicale libérale en France : bilan et perspectives* », qualité jugée insuffisante pour 20% des laboratoires, comparaison avec les autres pays européens
- **Septembre 2008 : Rapport de M. Ballereau** « *Projet de réforme de la Biologie médicale* »
- **Mars 2008** : plainte contre l'état Français et le Conseil de l'Ordre devant la cour européenne arguant du classement nécessaire de la Biologie médicale dans la catégorie des « services » (droit des entreprises, communautaire) et non plus de la « Santé » (droit et réglementation spécifique a chaque pays)

V. Evolution réglementaire

- **Janvier 2010 : « Ordonnance relative à la Biologie Médicale » pilotée par M. Ballereau**
Modifie en profondeur et révolutionne l'exercice de la profession.
Déclenche un mouvement de concentration important et très rapide du milieu de la Biologie Médicale (avec l'arrivée d'investisseurs étrangers à la profession)
Prévoit le regroupement des laboratoires pour « amortir » les baisses de nomenclature et les coûts de l'accréditation
 - ✓ Insiste sur la « médicalisation » de la biologie (interprétation des résultats, conseil prescripteurs, maillon essentiel du parcours de soins, participation à 70% des diagnostics)
 - ✓ Autorise la création de laboratoires multi-sites ou LBM (nombre illimité de sites sur 3 territoires de santé limitrophes) regroupés autour de « Plateaux techniques »
 - ✓ Introduit la notion de « Qualité prouvée », rend obligatoire une accréditation par le Cofrac selon la norme Iso « 15189 » sur 100% de l'activité du LBM en 2016 (selon un calendrier progressif)
 - ✓ Transferts, fermeture et ouverture de sites soumis à une autorisation de l'ARS (en fonction du SROS et de règles d'organisation territoriales et prudentielles : 25% et 33 % max. de l'offre dans un territoire de santé)
 - ✓ Impose un nombre de biologistes associés supérieurs ou égal au nombre de sites du LBM
 - ✓ Création des contrats de coopération (transmission de 10-15% maximum de l'activité), disparition des contrats de collaboration
 - ✓ Réglementation identique pour la « Ville » et « l'Hôpital »

VI. Evolution réglementaire

- **Mai 2013 : loi sur la « Réforme de la Biologie médicale »**
 - ✓ Ratifie l'ordonnance du 13 janvier 2012
 - ✓ Modifie le calendrier d'accréditation 15189 : accréditation obligatoire des examens réalisés dans le LBM au minimum de 50% en novembre 2016, de 70% en 2018 et de 100% en 2020
 - ✓ Précise le cadre « pré-analytique » et introduit la notion d'examens « urgents » (en attente de décret)
 - ✓ Interdit les « ristournes » ou « remises »
 - ✓ Essaye de limiter la « financiarisation » de la profession en interdisant le recours au 1^{er} alinéa de l'article 5-1 de la Loi Murcef n° 90-1258 du 31/12/1990 sur les SPFPL (mais sans rétroactivité)
- **Des décrets d'application restent encore à paraître**, qui peuvent encore modifier sensiblement l'exercice de la profession

VII. Conséquences

- **Concentration et regroupement très important des laboratoires**
 - ✓ Création de LBM multi-sites de plusieurs dizaines de laboratoires
 - ✓ Dans toute la France
 - ✓ Economies d'échelles réactifs/automates, liées à la création de plateaux techniques centralisés
 - ✓ investissement liés à la création de ces plateaux techniques : aménagement, matériels, personnel
 - ✓ Dépenses liées à l'accréditation obligatoire : Logiciels, qualitiens, métrologie, investissement en temps humain, couts COFRAC
 - ✓ Augmentation des dépenses « sociales » : suppression des allègements de charges, charges/impôts et taxes supplémentaires, mise en place d'un CE, d'un CHSCT, etc...
 - ✓ Couts liés à la création de services comptable, RH, informatique, etc...
 - ✓ Les quelques laboratoires isolés restant n'existeront plus au plus tard en 2020 (ils seront fusionnés, rachetés ou fermés)
- **Arrivée d'investisseurs étrangers à la profession**
 - ✓ Fonds d'investissements classiques, « Family office », Banques, etc ...
 - ✓ Achètent des laboratoires et créent des réseaux « nationaux » (en utilisant des failles légales de la législation)
 - ✓ Objectifs : réaliser des « LBO » et revendre rapidement (délai de 5-7 ans max.), certains réseaux ont déjà été revendu avant même cette date
 - ✓ Commencent a faire de même avec les Cabinets d'Anatomopathologie (et bientôt avec les Radiologues ?)

2

Regroupements en LBM

L'exemple du LBM Bioesterel

I. Le LBM BIOESTEREL



Le LBM BIOESTEREL est un laboratoire d'analyses médicales Multi-sites implanté sur les Alpes-Maritimes et le Var. Il résulte d'un regroupement de laboratoires privés initié en 2010 par le Laboratoire Dubertrand-Flé avec les associés de la SCM BIO 06.

C'est une société d'exercice libéral par actions simplifiée (SELAS), immatriculée au RCS de Cannes

Actionnariat composé uniquement de biologistes exerçants dans la société

Nombre de sites : 53 laboratoires en 2013, bientôt 66 laboratoires en juillet 2014 (fusion en juillet 2014 avec les LBM Biosynergie, Bactival et Medibio). 7 plateaux ou sites techniques

A peu près 6 000 patients gérés par jour :

- 11 Cliniques, plus de 50 EHPAD et centres d'Hémodialyses gérés
- 6 Millions de tests annuels
- CA 2014 prévu : 61 M€

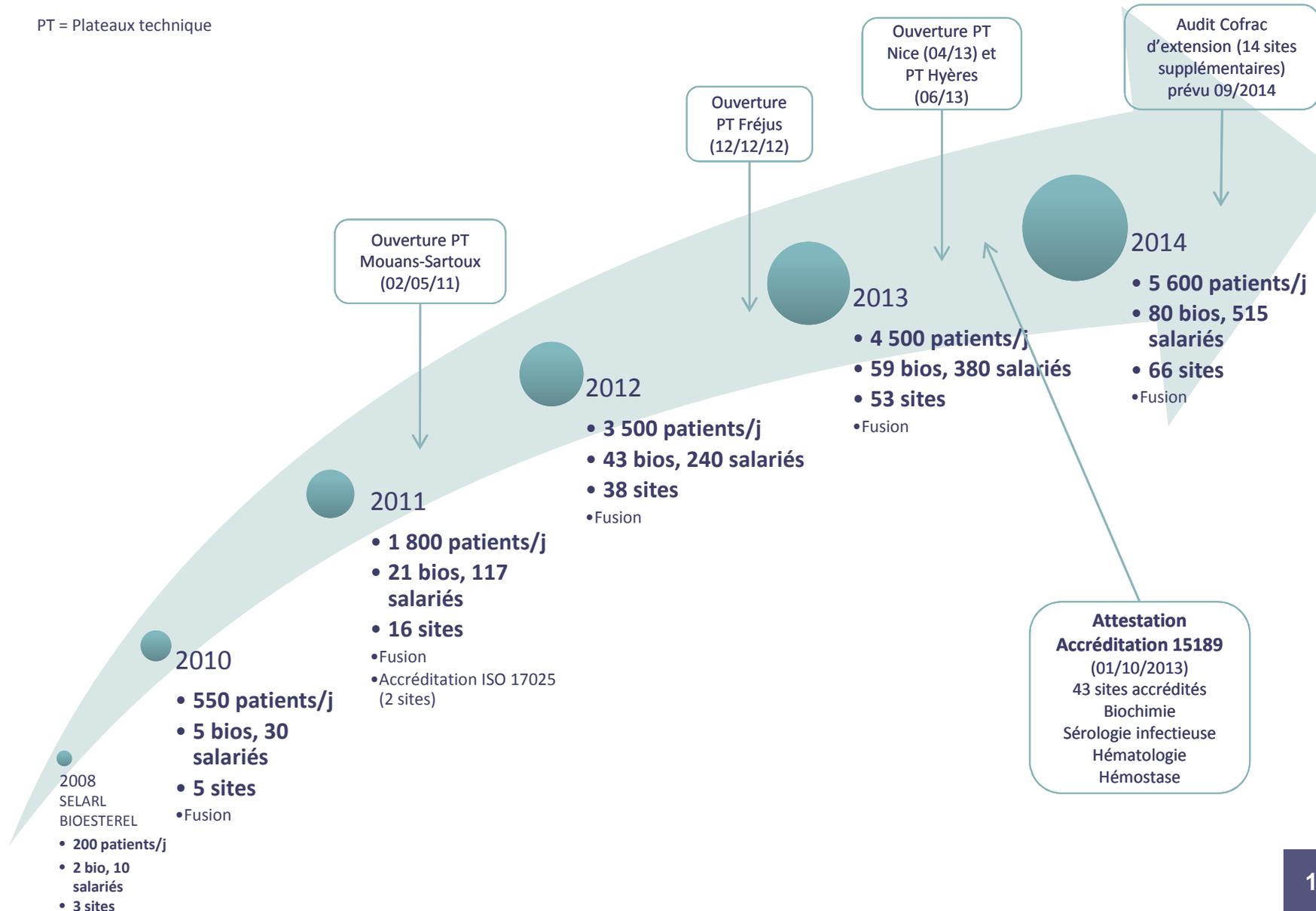
Effectifs : 570 personnes

- **80 Biologistes**
- Une DRH, un Directeur Financier, un Chef Comptable, un DSI, 12 secrétaires administratives/RH/comptables
- 242 techniciens, 50 infirmier(ère)s, 136 secrétaires médicales
- 5 qualitiens, 1 technicien métrologue
- 40 coursiers

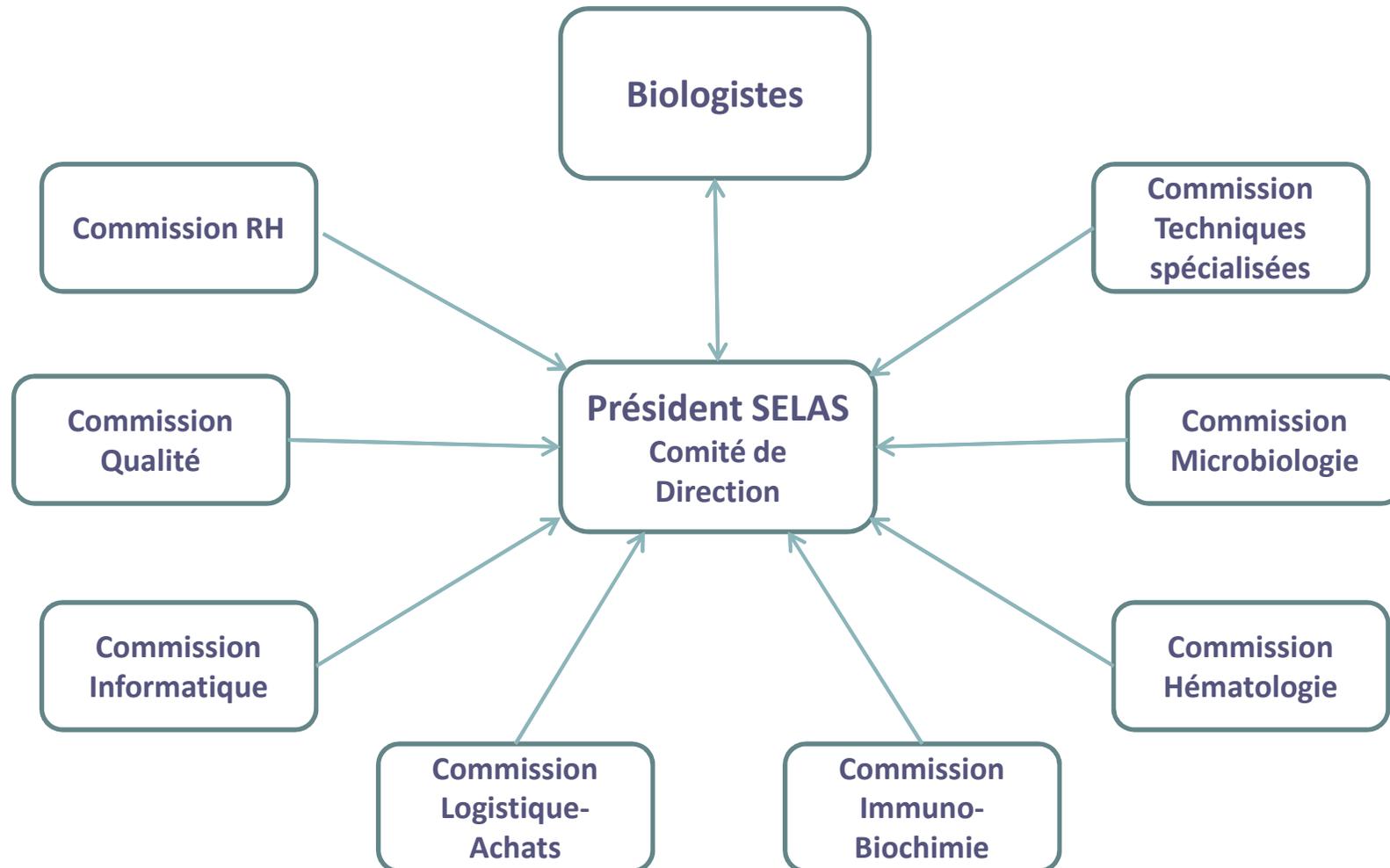
Site internet BIOESTEREL : www.bioesterel.fr, il donne accès au serveur de résultat web et à un espace intranet dédié aux professionnels de santé

II. Evolution très rapide

PT = Plateaux technique

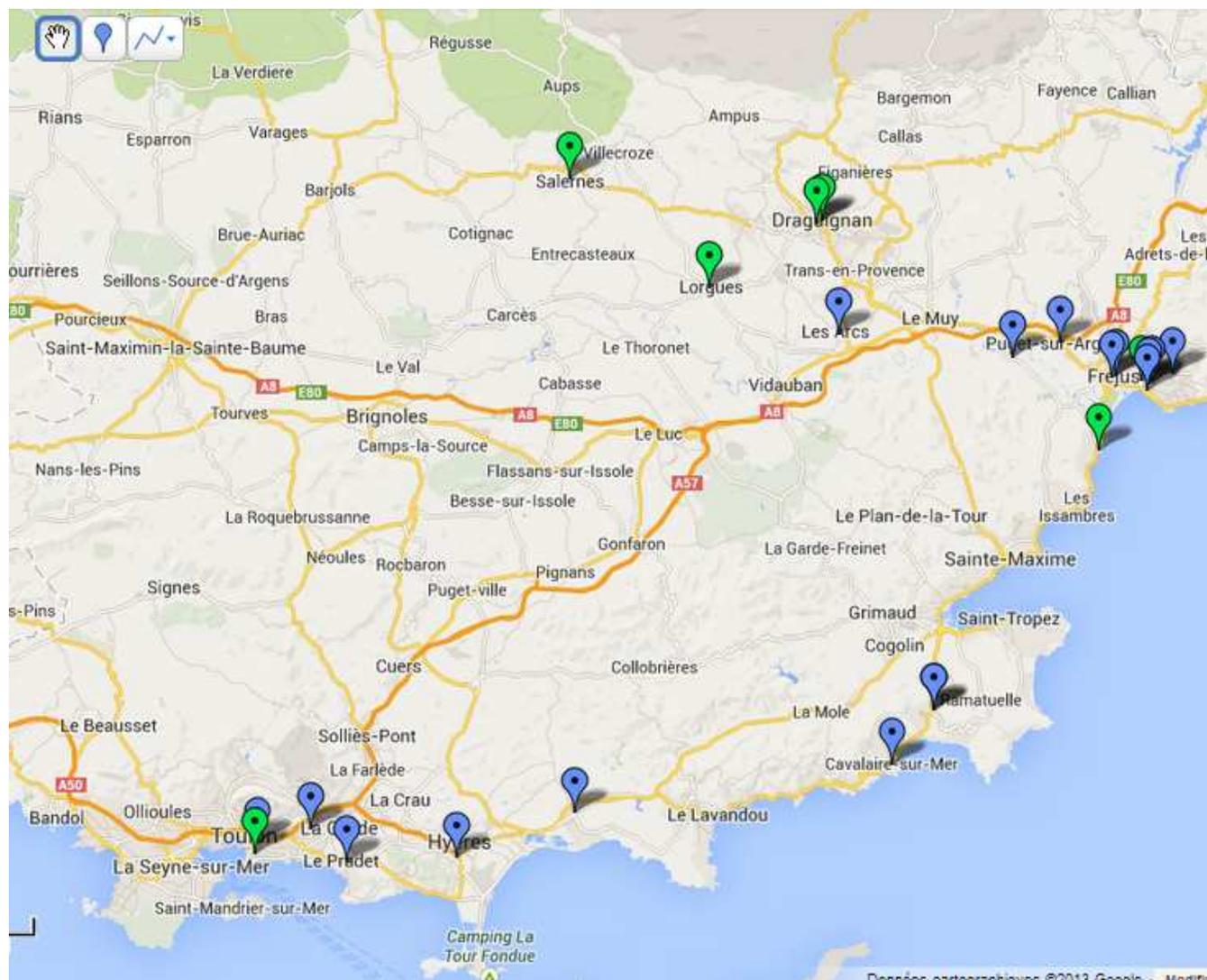


IV. Gouvernance LBM Bioesterel



VII. Réseau Var

Réseau Bioesterel 2014



VIII. Organisation Technique



Le LBM BIOESTEREL dispose de **sept plateaux ou sites techniques** au total, répartis sur les deux départements du 06 et du 83, afin de répondre au mieux aux exigences de qualité et de délai de rendu des résultats.

1. Un Plateau technique principal à Mouans-Sartoux dans les Alpes-Maritimes

- Surface : 1 200 m²
- Hébergeant les services administratif, comptable, informatique et Qualité
- Equipé d'une chaîne robotisée LabCell de Siemens

2. Deux Plateaux techniques secondaires

- Fréjus (laboratoire Boissy)
- Draguignan (laboratoire Clémenceau-Biosynergie)

3. Quatre sites techniques d'urgence/routine

- Cannes (Clinique Oxford)
- Grasse
- Nice
- Hyères

4. Un nouveau plateau technique de 750 m² est en cours d'aménagement dans le Var (mise en service prévue fin 2014) pour améliorer et optimiser encore la gestion technique et le délai de rendu des analyses de ce secteur. Il permettra aussi d'assurer plus aisément le back-up du Plateau de Mouans-Sartoux et améliorera la continuité de nos services.

5. Objectif : chaque site du LBM Bioesterel doit être à moins de 30 mn d'un site technique (gestion des urgences optimale), actuellement 80% des sites de Bioesterel sont à moins de 20 mn

IX. Plateau technique Mouans



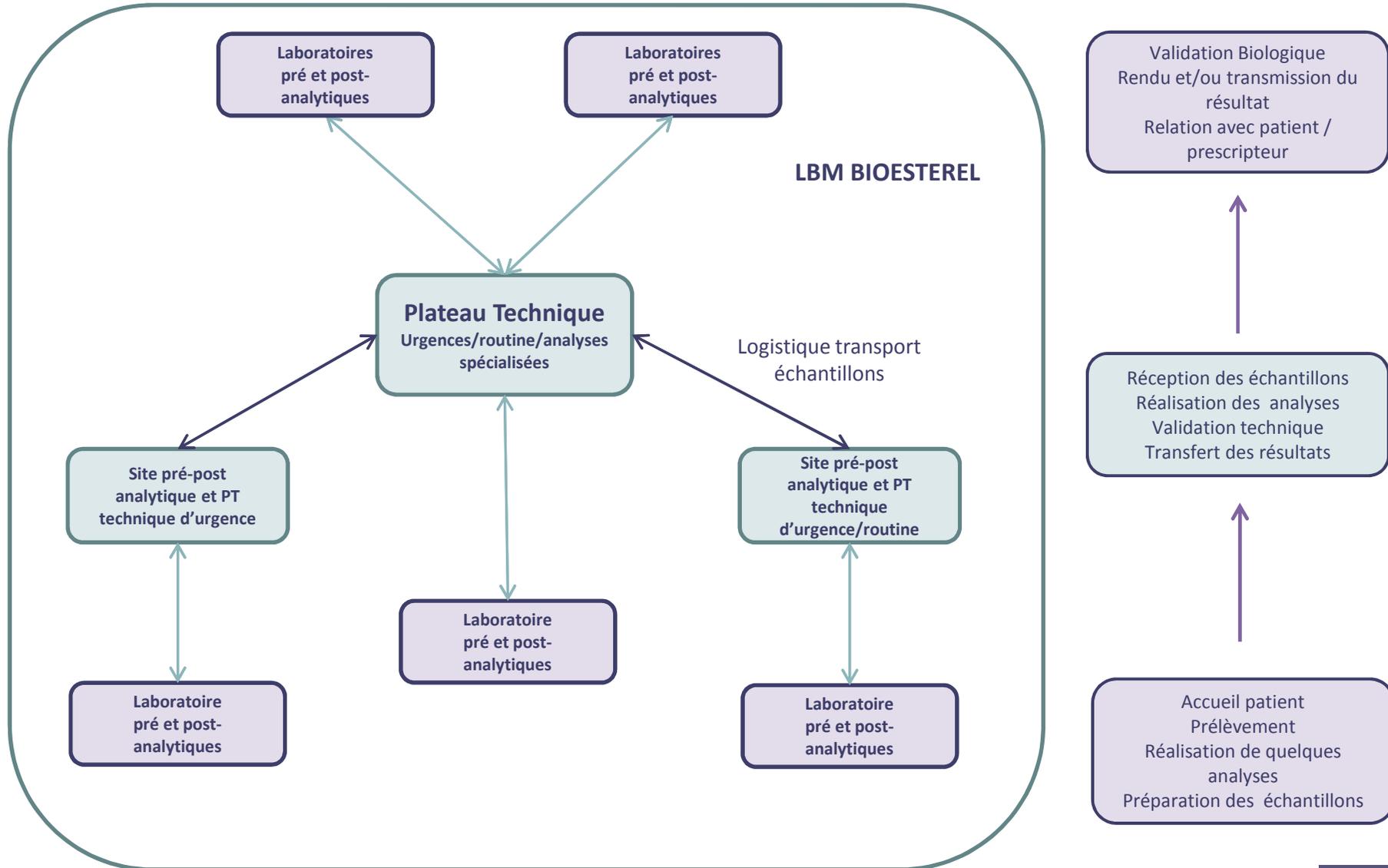
Plateau technique de Mouans-Sartoux



28/05/2014

X. Organisation technique

Gestion de l'activité biologique



XI. SMQ et Accréditation Cofrac



SMQ : Les principaux éléments de notre système qualité sont

- Matériels :
 - ✓ Logiciel Qualité Kalilab multi-sites
 - ✓ Logiciel métrologie Oceansoft multi-sites
- la Cellule Qualité :
 - ✓ 1 RAQ : **Daniel Moatti**, auditeur Cofrac senior
 - ✓ 1 Commission Qualité (7 biologistes, présidée par Daniel Moatti)
 - ✓ 4 ingénieurs Qualité, 21 Gestionnaires Assurance Qualité
 - ✓ 1 Qualiticien responsable et un technicien métrologue

Accréditation

- **Le LBM Bioesterel est accrédité depuis le 15 avril 2011** (n° accréditation 8-2592) sur 61% de son activité et répond aux exigences réglementaires (Ordonnance et Loi sur la réforme de la Biologie)
- **44 sites de Bioesterel sont actuellement accrédités selon la norme ISO 15189 dans 4 domaines** (Biochimie, Hématologie, Hémostase, Sérologie infectieuse) pour les activités analytiques (3 sites dont le plateau de Mouans-Sartoux) ainsi que pour le pré et post-analytique. La demande d'extension d'accréditation des sites pré et post analytiques restants a été déposée au Cofrac, la visite d'audit est prévue mi-septembre 2014.

XII. Biologie spécialisée, pôle d'expertise



Réalisation de nouveaux paramètres au sein du GIE LAM

- Le LAM est un réseau de Laboratoires de Biologie Médicale multi-sites regroupés autour d'un GIE, il est né de la volonté d'améliorer la qualité du service rendu aux patients et aux médecins.
- Il comprend à l'heure actuelle plus de 170 sites répartis sur le pourtour de l'Arc Méditerranéen (06, 83, 13, 30, 34) pour un CA de 200 millions €.
- Prise en charge de certaines analyses biologiques de 2^{ème} intention (dites « analyses spécialisées »), pour un délai de rendu des résultats et une expertise médicale améliorés
- **Réalisation sur notre plateau technique Bioesterel de Mouans-Sartoux des paramètres d'hormonologie, d'auto-immunité et d'allergie**



3

Hémostase

Pré-analytiques

Prélèvement sur tubes citratés

1. TP, TCA, TCK, Fibrine , D Dimères, Antithrombine:
conservation 8 h à température ambiante
2. HNF(héparine non fractionnée) et HBPM (héparine de bas poids moléculaire)
:
stabilité 4 h à température ambiante,
 - ✓ HNF : prélèvement entre 2 injections
 - ✓ HBPM: 3 à 4 h après injection si 2 inj/jour
4 à 6 h après injection si 1 inj / jour

Autres tests de coagulation : congélation rapide.

Noter sur l'ordonnance le traitement du patient

TCA et TCK, différences ?

1. TCA : temps de céphaline activée

- Test global de la coagulation qui explore en particulier les facteurs VIII, IX, XI et XII.
- Test très sensible aux anticoagulants circulants : ACC (lupus anticoagulant...)
- Test utilisé pour le suivi du traitement par héparine non fractionnée

2. TCK : temps de céphaline kaolin

Test global moins sensible explorant les mêmes facteurs mais il est insensible aux anticoagulants circulants.

Intérêt :

- devant un TCA dont le rapport P/T est $> 1,2$ le TCK permet de vérifier l'absence d'ACC
- **Si TCA avec Rapport $>1,2$ et TCK avec rapport $<1,2$:**
Absence de risque hémorragique, avec présence possible d'un ACC.
- **Si TCA avec rapport $>1,2$ et TCK avec rapport $>1,2$:**
Présence d'un risque hémorragique. Faire le dosage des facteurs correspondants.

Temps de saignement

Le TS est non recommandé par l'HAS depuis 2011

Il n'est plus à la nomenclature depuis février 2013.

- Il présente une mauvaise spécificité et sensibilité, il peut laisser des cicatrices et il est non prédictif.
- Il n'est donc plus réalisé en laboratoire

Il n'existe pas de test de remplacement

Bilan hémostase préopératoire « classique » : Plaquettes, TP et TCA (rien d'obligatoire, interrogatoire +++)

Pour dépistage et diagnostic de maladie de Willebrand: dosages fonctionnel et immunologique du facteur Willebrand et du facteur VIII

L'évaluation des fonctions plaquettaires se fait par tests d'agrégations spécifiques.

Agrégats plaquettaires

Phénomène d'agrégation plaquettaire à l'EDTA : présent chez certains patients, relativement fréquent (15% des thrombopénies), peut donner des résultats très bas < 30 G/l

- Agglutination in vitro des plaquettes par présence d'Ac anti-plaquettes (d'isotypes IgG ou IgM) actifs en présence d'EDTA (principalement à température ambiante)
- Phénomène souvent persistant, quelquefois transitoire dans un contexte infectieux ou de prise médicamenteuse
- **Recherchés systématiquement par le laboratoire** si thrombopénie < 140 G/l lors de la numération (en l'absence d'antécédents)
- Il est suspecté sur l'aspect des graphes des automates à numération, le frottis sanguin reste indispensable pour l'affirmer

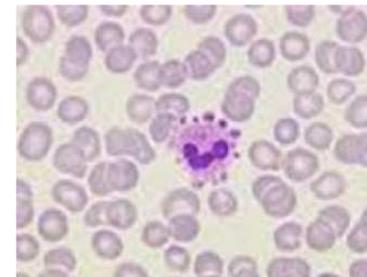
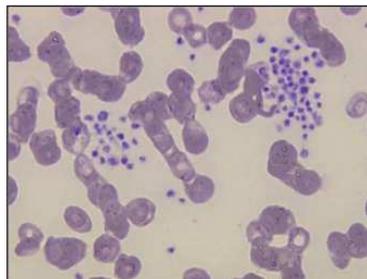
Dans ce cas et uniquement dans ce cas :

→ **Nouveau prélèvement sur tube citraté** indispensable pour déterminer le nombre de plaquettes (attention résultat approximatif, les numérations sur citrate sous-estiment nettement les plaquettes), **il doit toujours être accompagné d'un tube EDTA**

Autres causes artéfactuelles de thrombopénie :

- Satellitisme des plaquettes autour des PNN (thrombopénie modéré),
- Plaquettes géantes (impact souvent faible)

NB : Dans d'exceptionnels cas, l'agglutination peut persister avec le citrate, un autre anticoagulant doit être alors utilisé



NACO et tests biologiques (1)

Les NACO (nouveaux anticoagulants oraux) : Pradaxa (anti-IIa), le Xarelto et l'Eliquis (anti-Xa)

1. Tests utiles avant la mise sous NACO et en surveillance annuelle :

- La fonction rénale: créatinine et clairance de Cockcroft (Pradaxa CI si < 30 ml/mn)
- La fonction hépatique
- Le taux d'Hb

2. Patient sous traitement :

- absence de surveillance par des tests de coagulation → **PAS d'INR**
- TP et TCA peuvent être modifiés avec des variations selon le type de médicament et le réactif utilisé

3. Si chirurgie en urgence : réaliser TP et TCA

- Ratio TCA $< 1,2$ et TP $> 70\%$ pas de CI biologique .
- Ratio TCA entre 1,2 et 1,5 ou TP $< 70\%$ attendre 6 a 12 h et redoser.
- Ratio TCA $> 1,5$ attendre 12 à 24 h et redoser.
- Si urgence, antagoniser (FEIBA et CCP).

NACO et tests biologiques (2)



Dosages uniquement dans certains cas particuliers: syndrome hémorragique ou apparition de risque de comorbidité avec risque de surdosage, chirurgie urgente

Dosage de la concentration plasmatique des médicaments (activité anti-Xa ou anti-IIa) en utilisant des calibrateurs et des contrôles spécifiques, le prélèvement devant être effectué 2 à 3 h après la prise(activité anticoagulante maximum)

Ces dosages sont non remboursés et réalisés dans des laboratoires spécialisés

Bilan thrombophilie (1)

Paramètres biologiques

Chez qui ?

- Chez les sujets à risque : phlébite ou EP survenant
 - ✓ Sans facteur déclenchant ou récidivant
 - ✓ Ou chez un sujet jeune (< 50 ans)
 - ✓ Ou de localisation exceptionnelle (mésentérique, oculaire, etc..)
- Histoire thrombotique familiale (1^{er} degré +++)
- En cas d'avortement répétés ou de mort fœtale.
- +/- après thromboses veineuses superficielles récidivantes sur veines saines
- Nécrose cutanée lors de TRT par AVK

Quel intérêt ?

- Adapter le traitement de l'épisode aigu de thrombose à l'anomalie détectée
- Eviter les récurrences en continuant le traitement au long cours
- Dépister les autres cas dans la famille du sujet atteint

Bilan thrombophilie (2)

Paramètres biologiques

Quels tests ?

1. Bilan de coagulation standard

- TP, TCA, fibrinogène (+/- CRP)
- NFS plaq.

1. Déficiences en inhibiteurs de la coagulation: déficits rares, mais thrombogènes ++

- Antithrombine III
- Protéine C
- Protéine S

2. Anomalies moléculaires : déficits plus fréquents, mais moins thrombogènes

- Mutation du facteur V Leiden (ou RPCA en dépistage)
- Mutation du facteur II

3. Anomalies acquises

- ACC de type lupique, antiphospholipides (SAPL)

4. Anomalies métaboliques : facultatifs (facteur de risque incertain)

- Hyperhomocystéinémie (recherche mutation MTHFR non justifiée)
- Augmentation du facteur VIII (> 150% et persistante)

Bilan thrombophilie (3)

Idéalement, effectuer le prélèvement

- A distance d'un accident thromboembolique
- En dehors de tout traitement anticoagulant (héparine, NACO, AVK)
- A distance d'une grossesse, d'un syndrome inflammatoire important ou d'un traitement oestroprogestatif
- Au laboratoire d'analyses médicale (éviter prlvt à domicile)

	AT	PC	PS	RPCA
AVK		Baisse (attendre 3 semaines après l'arrêt)		
Xarelto, Pradaxa, Eliquis	Augmentation (attendre 3 jours après l'arrêt)			Résultats ininterprétables (attendre 3 jours après l'arrêt)
HNF et HBPM	Baisse (attendre 10 jours après l'arrêt)			
Grossesse/ IVG	Baisse (attendre 2 mois après l'accouchement)		Baisse (attendre 2 mois après l'accouchement)	Résultats ininterprétables (attendre 2 mois après l'accouchement)
Oestroprogestatifs	Baisse (attendre 2 cycles après l'arrêt)		Baisse (attendre 2 cycles après l'arrêt)	
Insuffisance rénale		Baisse		
Insuffisance hépatocellulaire		Baisse		Résultats ininterprétables

Bilan thrombophilie (4)

Protéine C

Synthèse hépatique, vitamine K dépendante

Valeurs normales : 70 - 130%,

déficit sévère si < 30%, déficits quantitatifs les plus fréquents

Epidémiologie :

- Prévalence au sein d'une population avec des antécédents de thromboses veineuses profondes : environ 3 %.
- 20 à 40 % des sujets porteurs du déficit restent asymptomatiques.
- Homozygotie rare

Protéine S

Synthèse endothéliale, hépatique, mégacaryocytaire, , Vitamine K dépendante, cofacteur de la Protéine C

Valeurs normales : ♂ 70 à 130 % - ♀ 60 à 130 %

Taux diminués sous TRT L-Asparaginase et si syndrome inflammatoire

Epidémiologie :

- Prévalence au sein d'une population avec des antécédents de thromboses veineuses profondes : environ 2-3 %.
- Homozygotie rare

Antithrombine III

Synthèse hépatique, **Taux normaux : 80-120 % (déficit < 50%)**

Chez l'enfant taux bas jusqu'à 6 mois, diminution pendant la grossesse après 13 SA et en post-partum

Epidémiologie :

- Prévalence au sein d'une population normale estimée autour de 1/2000 à 1/5000 (0,02 %).
- Prévalence au sein d'une population avec des antécédents de thromboses veineuses profondes : 1 à 4 %.
- 20 à 40 % des sujets porteurs du déficit restent asymptomatiques.
- Les premières thromboses veineuses profondes apparaissent rarement avant 16 ans, car les taux d'antithrombine III sont toujours plus élevés dans l'enfance.
- Thromboses veineuses profondes des membres inférieurs compliquées ou non d'embolies pulmonaires ++
- Des localisations plus rares de thrombose sont également décrites : thromboses veineuses mésentérique, cérébrale et portale.
- Des récives thromboemboliques sont retrouvés chez 60 % des patients, peu de thromboses artérielles sont rapportées.
- Risques de thromboses accrus chez les patients atteints d'hypertriglycémie ou d'hyperlipoprotidémie de type IV.

Mutation facteur V leiden

- 2 à 7% de porteurs dans la population générale, gradient nord-sud en Europe, rares chez les asiatiques
- Homozygotes peu thrombogènes

Bilan thrombophilie (6)

Remarques +++

- Importance du dépistage sur la base de la clinique et de l'interrogatoire
- **Toujours contrôler un déficit** sur un deuxième prélèvement au laboratoire réalisé à distance du premier
- Beaucoup de patients ont des facteurs de risque génétiques/acquis mais ne développent jamais de thromboses
- Importance des **facteurs déclenchants** : voyages avion, voiture, alitement, chirurgie, etc... → prévention et prophylaxie des situations à risque +++
- Déficit en Protéine C et S : risque de nécrose cutanée en début de TRT AVK, toujours commencer par le TRT héparine +++
- Dans les déficits en AT III, l'héparine, puisqu'il y a déficit en cofacteur, est moins efficace. Il faut donc associer comme traitement d'un épisode thromboembolique aigu de l'héparine et des concentrés d'antithrombine III à raison de 2,5 à 4,0 UI/kg/j. Relais classique par AVK.

Nomenclature:

- La recherche de protéine C activée (RPCA) permet de dépister un déficit en facteur V Leiden (exceptionnels faux négatif sur formes hétérozygotes). Il est hors nomenclature
- La recherche des anomalies moléculaires hors RPCA nécessitent le consentement du patient avec une attestation de consultation.

D-Dimères, intérêt et dosage

D-Dimères : produits de dégradation de la fibrine

Différentes techniques de dosages

- Quantitatives ou semi-quantitatives : techniques latex, sensibilité et spécificité insuffisantes (66 à 96 %), ne sont plus utilisées aujourd'hui (sauf diagnostic CIVD)
- Qualitatives : techniques Elisa ou « latex quantitatif » (μ -latex Stago par exemple), très bonne sensibilité (\approx 100 %) et valeur prédictive négative $>$ 98%
- Techniques les plus utilisées actuellement : Lia-test Stago (ou IL), Vidas DDimer

Seul Intérêt du dosage : exclusion d'une TVP ou d'une EP si résultat inférieur au seuil avec une sensibilité proche de 100% (faible valeur prédictive positive)

Le seuil d'exclusion est fixé à 500 ng/ml (0,5 μ g/ml) pour la quasi-totalité des techniques (les valeurs de références pouvant varier légèrement d'un réactif à l'autre)

Elévations physiologiques : âge avancé ($>$ 60-70 ans) et grossesse (activation coagulation)

Elévations non-spécifiques : patients hospitalisés, cancers, états infectieux et/ou inflammatoires, états post-opératoire et/ou post-traumatique

Attention si traitement anticoagulant (héparine ou AVK) : ils peuvent éventuellement diminuer le taux des D-Dimères

Maladie Cœliaque et tests biologiques (1)

Maladie **souvent pauci-symptomatique actuellement**, surtout chez l'adulte (anémie ferriprive, déminéralisation osseuse, trouble de la reproduction, arthralgies, troubles neurologiques, etc..).

La triade classique est plus rare et retrouvée plutôt chez l'enfant (diarrhée, stéatorrhée, amaigrissement, météorisme abdominal)

Diagnostic

- Biologique : sérologie +++
- Anapath : biopsie du grêle

Anticorps	Technique	Intérêt	NABM
Anti-Gliadine IgA/IgG	IFI	Nul, ne plus prescrire	Non-remboursés
Anti-réticuline IgA	IFI	Nul, ne plus prescrire	Non-remboursés
Anti-endomysium IgA	IFI , œsophage de singe	En deuxième intention chez l'enfant < 15 ans	Remboursé si enfant < 15 ans
Anti-transglutaminase IgA	Automatisé (EIA)	En première intention +++	Remboursé
Anti-endomysium IgG	IFI , œsophage de singe	Deuxième intention, si déficit en IgA connu	Remboursé
Anti-transglutaminase IgG	Automatisé (EIA)	Deuxième intention, si déficit en IgA connu	Remboursé
Anti-peptides modifiés gliadine IgG IgA		Meilleure corrélation avec atrophie villositaire ?	Non remboursés

Maladie Cœliaque et tests biologiques (2)

Intérêt de la sérologie

- Diagnostic d'orientation
- Suivi du traitement : les AC disparaissent en 12 à 18 mois maximum

Traitement

- Eviction stricte du gluten de l'alimentation
- Améliore très rapidement les signes cliniques et évite les complications graves (lymphome du grêle)

Pièges diagnostiques

- Exclure une maladie coeliaque si Ac anti-transglutaminase IgA ou anti-endomysium IgA négatifs
→ 2 % des patients ont un déficit en IgA, **le dosage simultané des IgA est donc conseillé**, si déficit prescrire les Ac anti-transglutaminase et anti-endomysium IgG
- Interpréter des Ac anti-transglutaminase ou anti-endomysium négatifs chez un patient suivant un régime sans gluten
- Chez le nourrisson et l'enfant, attention aux valeurs de référence pour le dosage pondéral des IgA (valeurs physiologiques faibles)
- **Chez l'enfant** : si anti-transglutaminase négatives sur le premier prélèvement et suspicion clinique forte, **toujours contrôler** sur un deuxième prélèvement (éventuellement avec les anti-endomysium)

4

Bactériologie

Adrien Nedelec

Notions fondamentales ...

- Pré-analytique
 - Toujours réaliser le recueil d'urine avant la prise d'antibiotique
 - Qualité du recueil : toilette intime, élimination du 1^{er} jet d'urine, récupération du 2^{ème} jet (1^{er} jet si suspicion d'urétrite voire de prostatite)
 - Les urines doivent être conservées au frigo et rapportées dans les 6H au laboratoire
 - À l'arrivée au laboratoire les urines sont transférés dans un tube boraté qui stabilise l'échantillon et permet d'avoir une bonne conservation jusqu'à 48h à température ambiante

- Seuil de significativité

Seuil abaissé à 10^3 UFC/mL pour les uropathogènes du groupe I : *E. coli* et *S. saprophyticus*

- Traitement

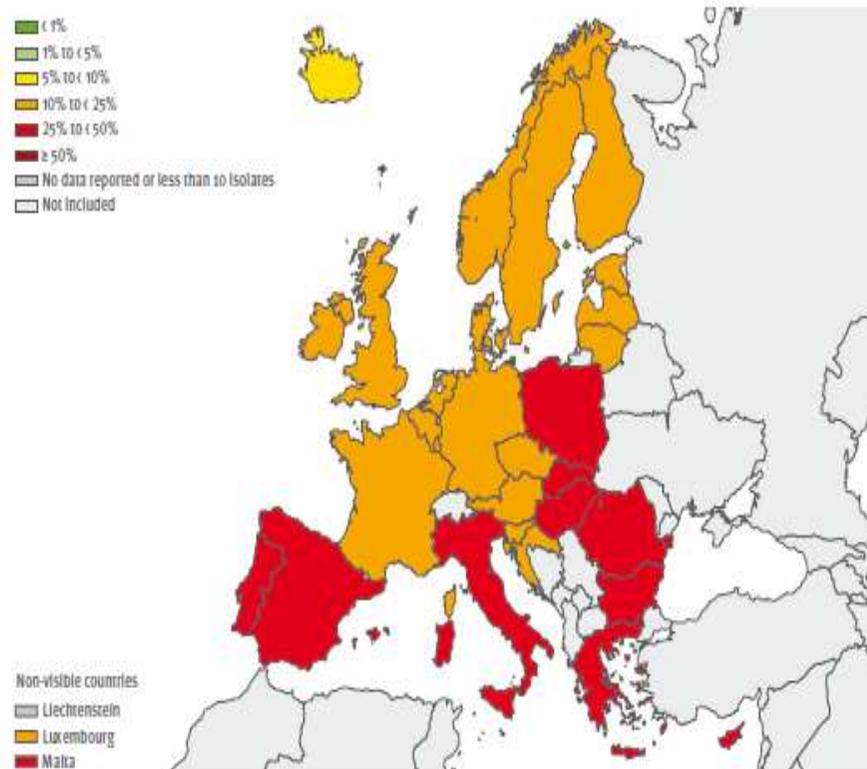
Traitement probabiliste par fosfomycine : Monuril® : uniquement en cas de cystite simple **ET** avec une bandelette urinaire positive pour les leucocytes et pour les nitrites

Attention, chez la femme jeune (< 30 ans) avec des nitrites négatifs : forte suspicion d'infection à *S. saprophyticus* naturellement résistant à la fosfomycine

Attention, chez l'homme une cystite doit toujours être considérée comme une prostatite : pas de traitement minute

Traitements

Figure 3.2. *Escherichia coli*. Percentage (%) of invasive isolates with resistance to fluoroquinolones, by country, EU/EEA countries, 2012

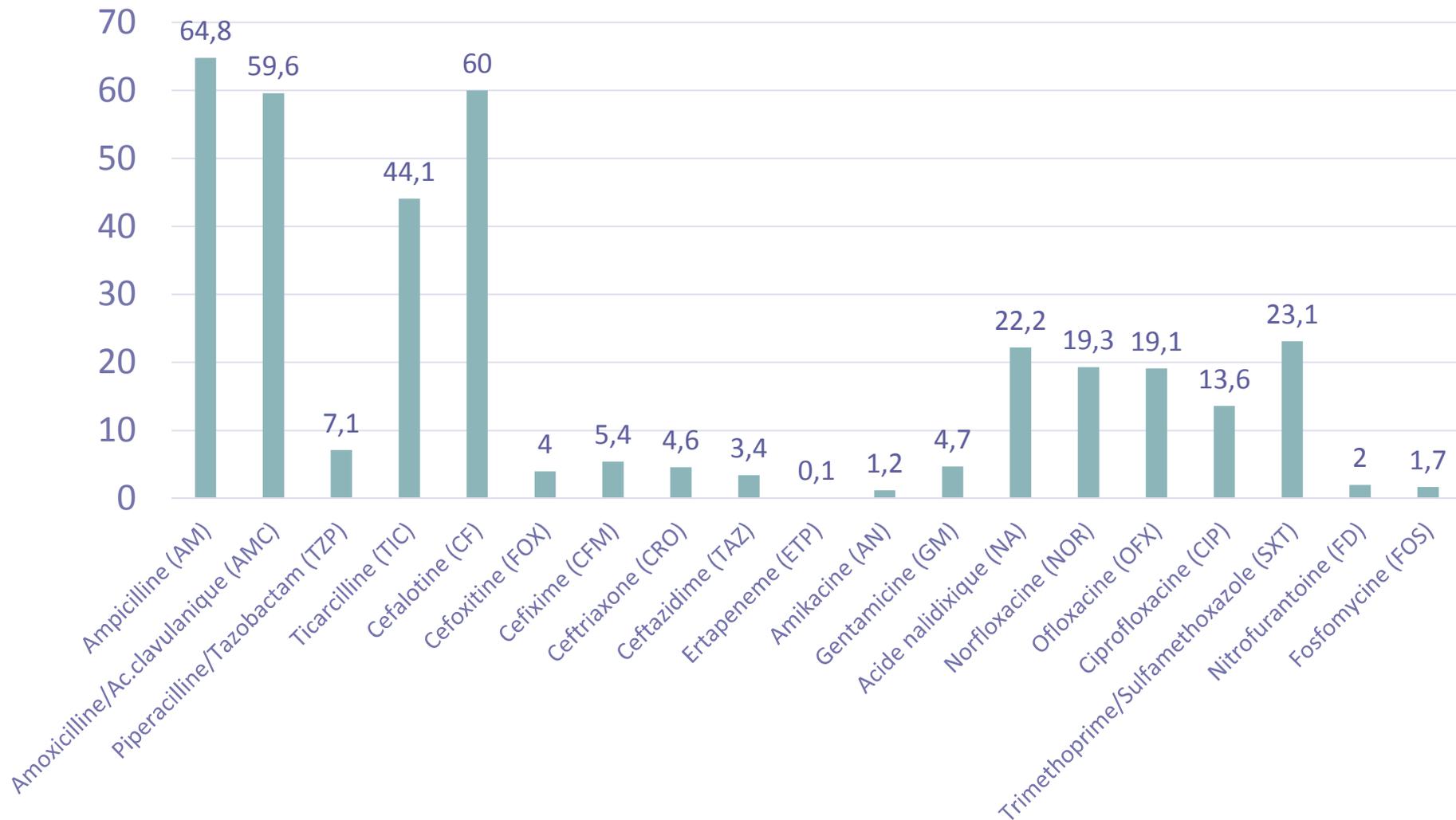


En 2012 en France, 18% des *E. coli* sont résistants aux fluoroquinolones

- Pas de traitement des colonisations (bactériurie et/ou leucocyturie sans signes cliniques) sauf femme enceinte et manœuvre urologique)
- Essayer d'attendre les résultats de l'antibiogramme pour traiter
- En cas de traitement probabiliste, réévaluation thérapeutique après le rendu de l'antibiogramme et éventuellement désescalade
- Ne plus utiliser les fluoroquinolones en traitement probabiliste ou en traitement de 1^{ère} intention
- Ne pas utiliser les fluoroquinolones si la bactérie est rendu I/R à l'acide nalidixique
- Ne pas utiliser de fluoroquinolone en cas de prise de quinolones dans les 6 mois précédents

Epidémiologie Bioesterel

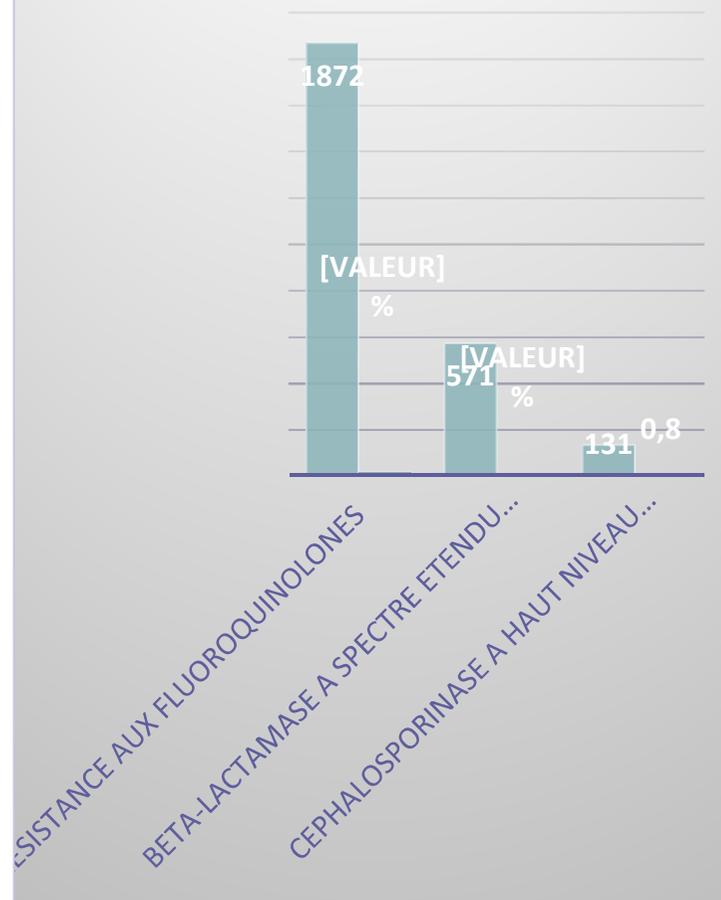
Profil de résistance des E. coli en 2013 au sein des laboratoires Bioesterel
(113 000 ECU, 17000 souches d'E. coli isolées)



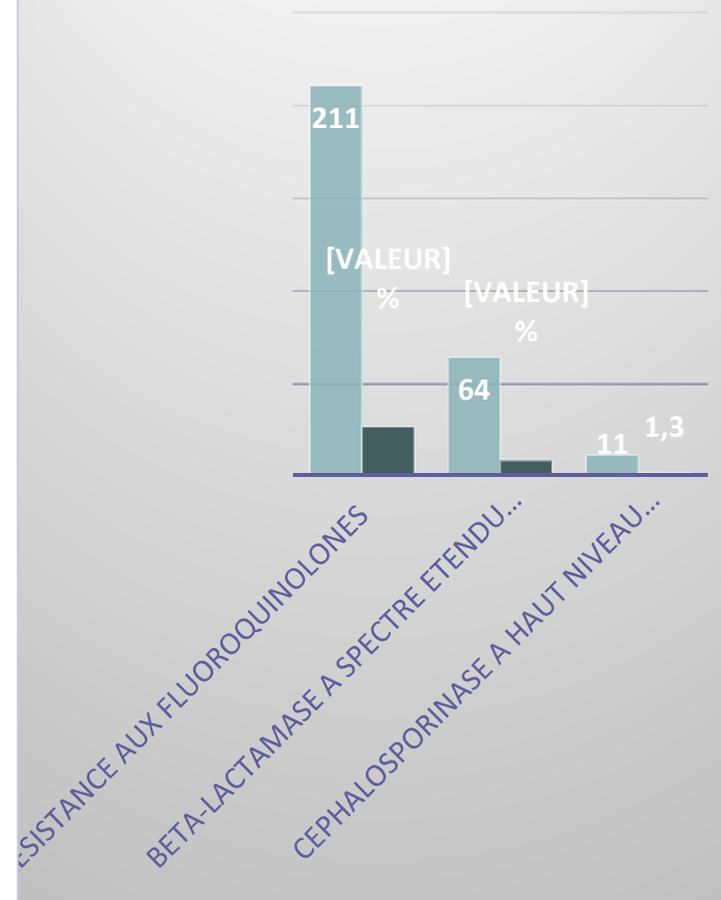
Epidémiologie Bioesterel : résistance bactérienne (*E. coli*)

Epidémiologie du 1^{er} janvier 2013 au 04 décembre 2013

**Médecine de ville : 127 757
prélèvements, 15701 *E.coli*
isolés (12,3%)**



**Etablissements de soins : 6636
prélèvements, 801 *E.coli*
isolés (12,1%)**



BLSE en médecine de ville



Kit BLSE RI PACA EST : Dr Véronique Mondain (Infectiologue)

- **Cystite Simple**

- **Cotrimoxazole : Bactrim Fort®** 1 cp x 2 /J (adapté à la fc rénale) 5 jours

- **Nitrofurantoïne : Furadantine®** 2 gel x 3 /J 7 jours

- **Ofloxacin : Oflocet®** 1 cp x 2 (adapté à la fc rénale), si le germe est rendu sensible aux quinolones de 1ère génération (a. nalidixique) 5 jours

Le traitement d'une cystite par quinolones est à éviter du fait de leur impact écologique et de la diminution des antibiotiques disponibles

- **Fosfomycine-trometamol** : 1 sachet de 3g (hors AMM puisque réservé aux cystites simples, sur avis infectieux)

- **Pyélonéphrite/Prostatite**

Traitement en ville si forme non compliquée non sévère et sensibilité à l'une des 2 familles suivantes :

- **Cotrimoxazole : Bactrim F®** 1cp x 2 si < 80 kg, 1 cp x 3 si > 80 kg, à adapter à la fc rénale, avec surveillance clinique (effets secondaires cutanés ou digestifs) et biologique (NF, transa et créat à J10)

- **Ofloxacin : Oflocet®** 1 cp (200 mg) x 2 si < 80Kg, 1,5cp x 2 si poids > 80 kg, à adapter à la fc rénale, et si le germe est rendu sensible aux quinolones de 1ère et 2ème génération (A.nalidixique, norfloxacin).

- **Gentamycine IM** en 1 injection/J de 3 mg/kg en l'absence d'autre alternative, seulement pour pyélonéphrite et selon le terrain et la fc rénale

Durée de traitement : 10 jours si pyélonéphrite, 3-4 semaines si prostatite aiguë, 6 semaines si prostatite chronique.

Avis infectiologue et urologue recommandé.

ECBU de contrôle 4 semaines après la fin de l'antibiothérapie pour les prostatites

- **Colonisation**

Pas de traitement antibiotiques (sauf femme enceinte et manœuvre urologique)

Les Bactéries Multi-Résistantes : BMR

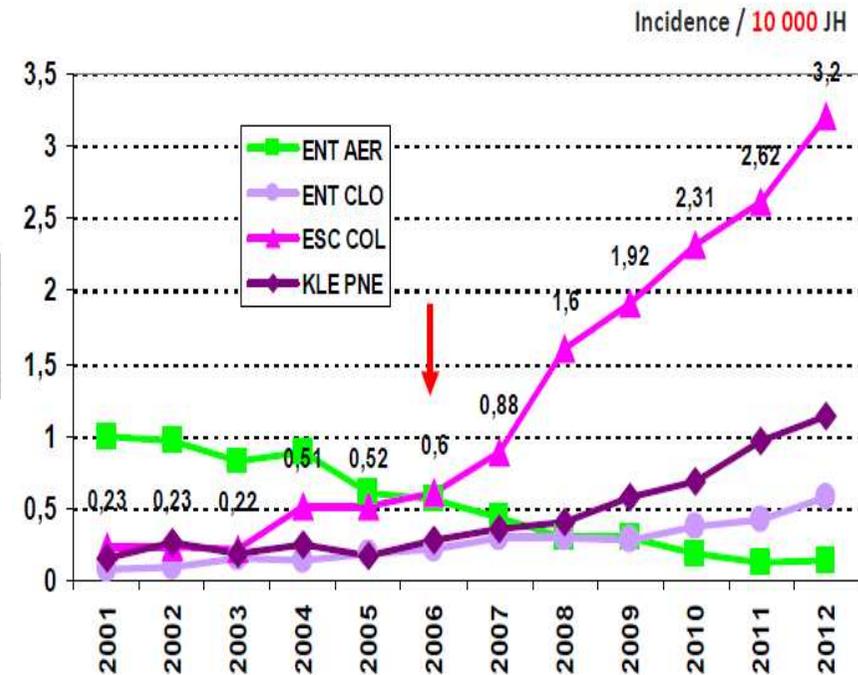
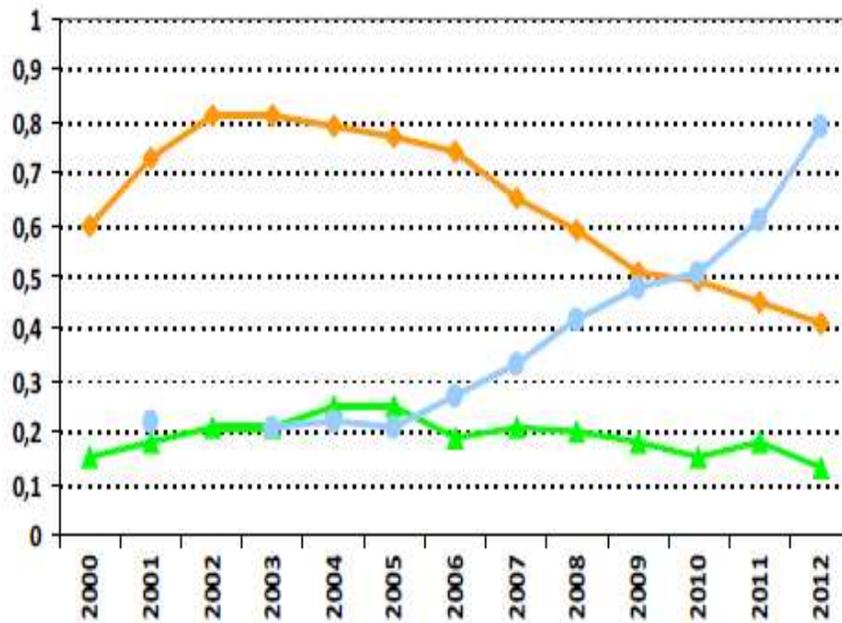
On appelle « bactéries mutli-résistantes » des bactéries qui par l'apparition de résistances acquises ne sont sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques actifs en thérapeutique.

- Entérobactéries résistances aux céphalosporines de 3^{ème} génération (injectables) :
 - Béta-lactamases à spectre élargi : BLSE (mécanisme plasmidique)
 - Céphalosporinases de haut niveau : HCAZ (mécanisme chromosomique)
- Entérobactéries productrices de carbapénémases : EPC
- Staphylocoques dorés résistants à la méticilline (qui sont résistants à toutes les bêta-lactamines) : SARM
- *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime : PARC
- Entérocoques résistant à la vancomycine : ERV
- *Acinetobacter baumannii* multi-résistant : ABR

Incidence des BMR (2000 – 2012)

CLIN Sud Est

Evolution par année des taux d'incidence des BMR (court séjour)



Depuis 2000 : maîtrise des SARM mais augmentation importante des BLSE principalement chez *E.coli* et *K.pneumoniae*

Evolution de la consommation d'ATB (de C3G)

Figure n° 1 : évolution de la consommation d'antibiotiques en France



Source - ANSM

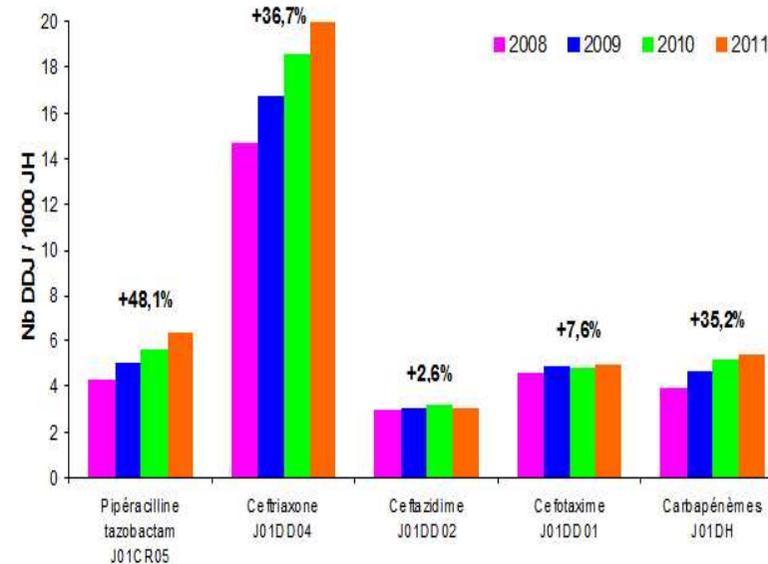
La consommation est présentée un nombre de Doses Définies Journalières pour 1000 Habitants et par Jour (DDJ/1000HJ). Définie par le « Collaborating Centre for Drug Statistics Methodology » de l'OMS, la DDJ, ou posologie standard pour un adulte de 70kg, permet de calculer, à partir du nombre d'unités vendues, et en fonction du nombre d'habitants, la consommation de chaque molécule.

Consommation en antibiotiques ATB-RAISIN, 2008-2011



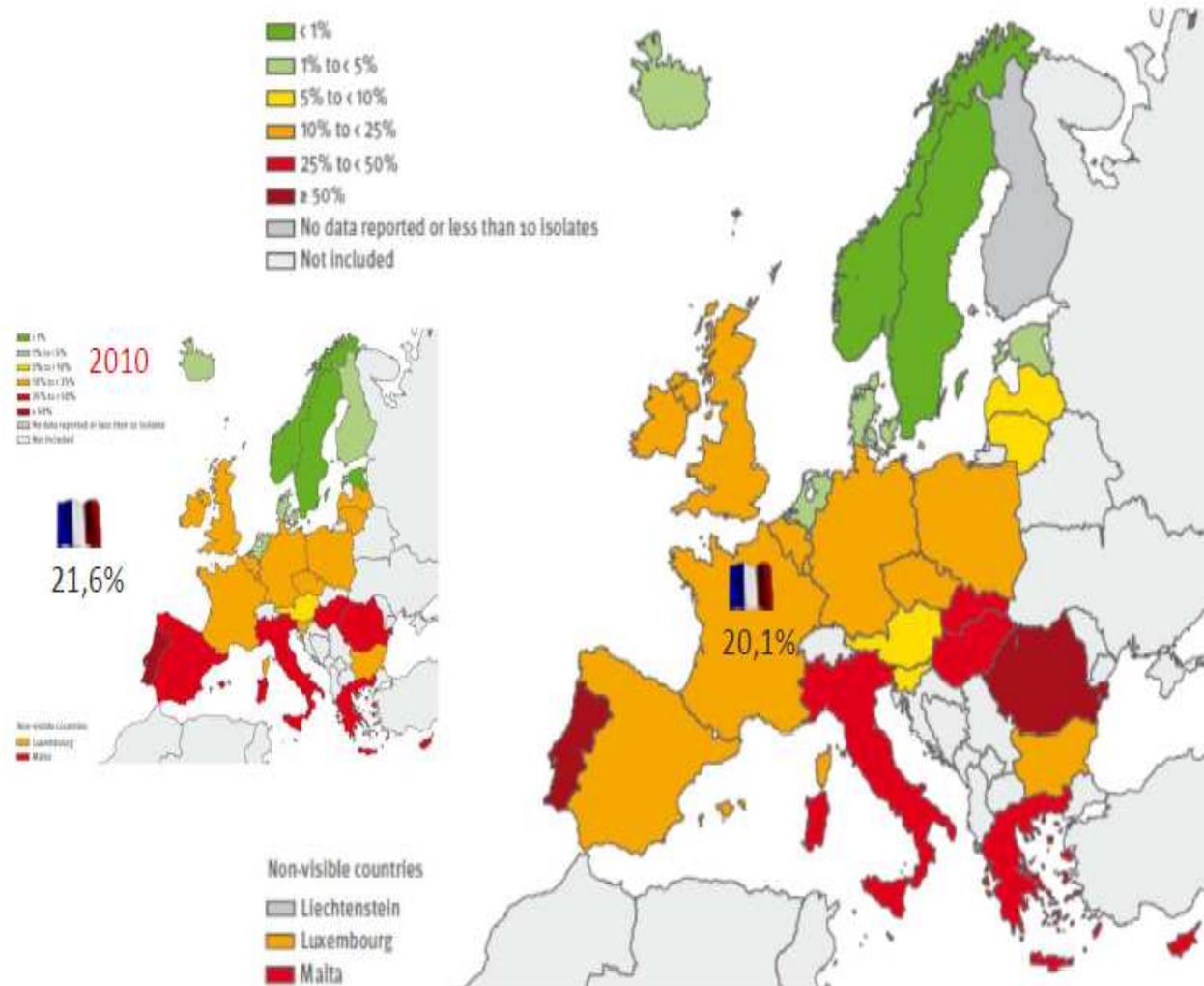
Résultats

Evolution des consommations de certaines bétalactamines en DDJ / 1000 JH (taux globaux) dans la cohorte de 614 ES ayant participé de 2008 à 2011

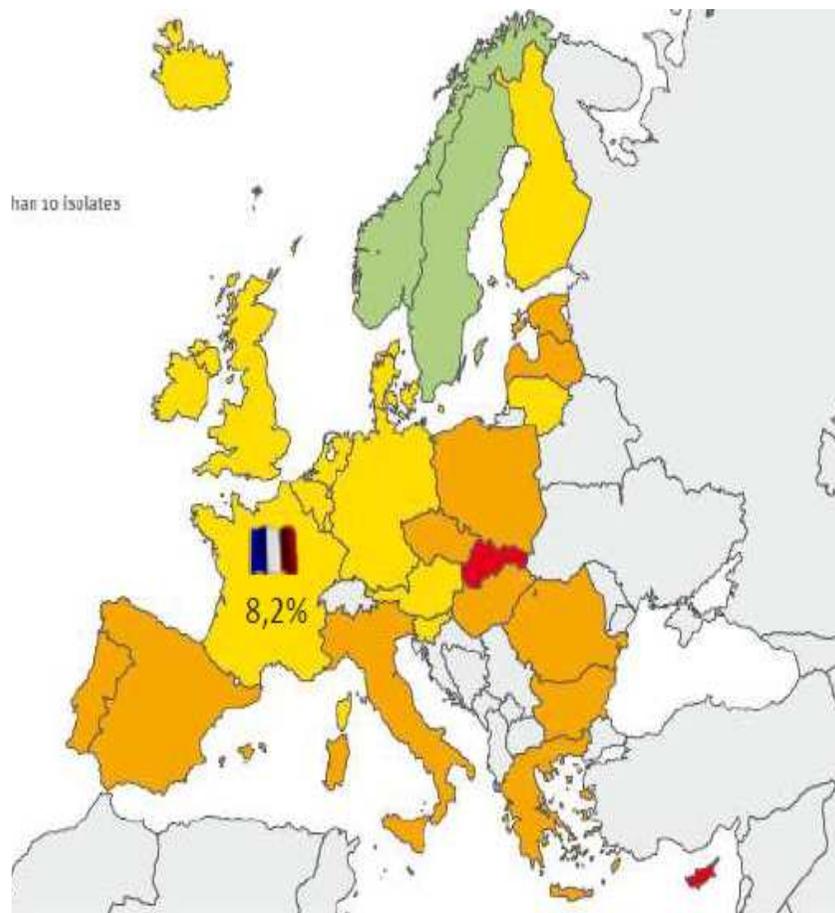


EARS 2011 - SARM

Figure 4.38: *Staphylococcus aureus*: percentage (%) of invasive isolates resistant to meticillin (MRSA), EU/EEA countries, 2008–2011

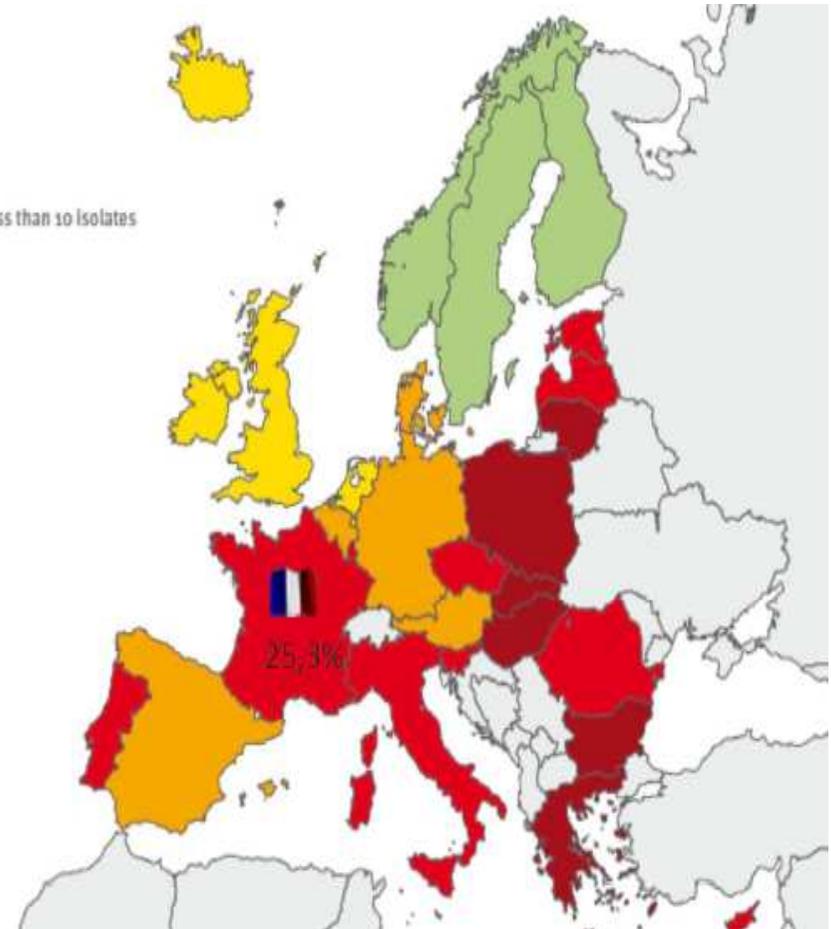


Résistance bactérienne en Europe (EBLSE)



E. coli BLSE

EARS - 2011



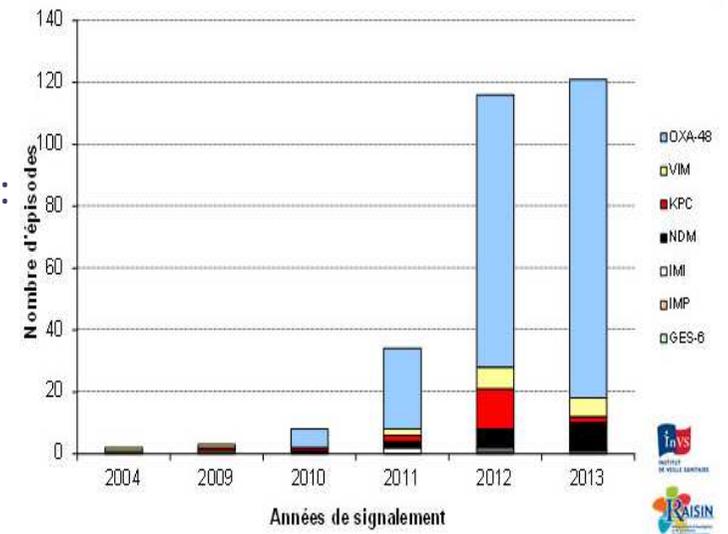
K. Pneumoniae BLSE

Les Bactéries Hautement Résistantes émergentes (BHRe)

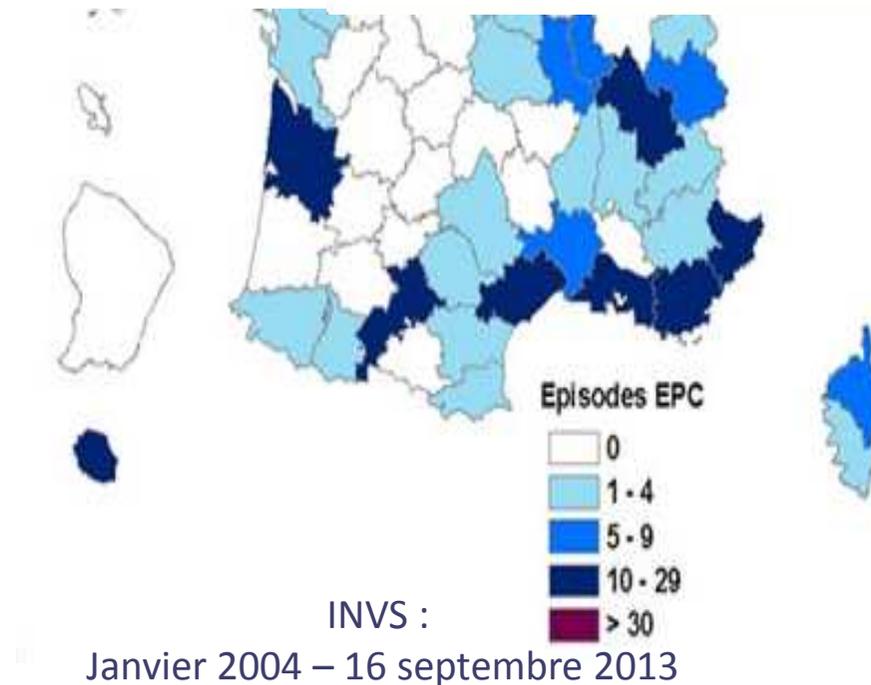
BIOESTEREL
Laboratoire de Biologie Médicale

Création d'un nouveau groupe de bactéries résistantes :
les Bactéries Hautement Résistantes émergentes (BHRe)

- ✓ Entérobactéries Productrices de Carbapénémases (EPC) :
 - OXA-48
 - KPC, VIM, IMP
- ✓ *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine (ERV)



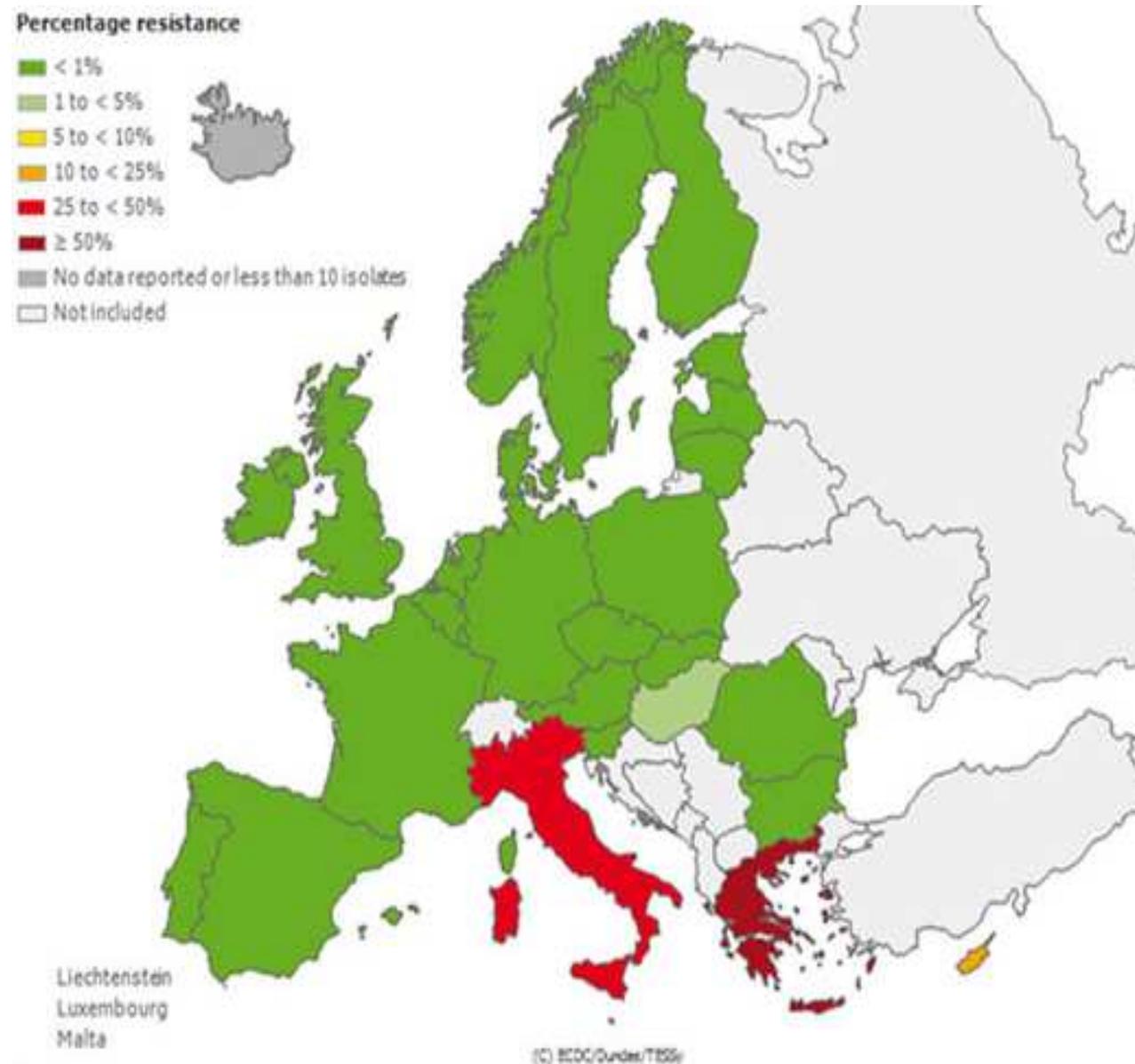
Epidémie de EPC OXA 48
dans de nombreux
établissements de la
région PACA et de Corse



Résistances aux carbapénèmes

Pourcentage de
résistance aux
carbapénèmes dans
des infections
invasives

Données EARS net
2012



Epidémiologie Bioesterel : Carbapénémases



9 cas depuis 1 an ...

Cas n°1 : 20/11/12 : *Klebsiella pneumoniae* OXA 48 isolée à partir d'une ECBU

Cas n°2 : 12/02/13 : *Klebsiella pneumoniae* OXA 48 isolée à partir d'une ECBU

Cas n°3 : 21/02/13 : *Klebsiella pneumoniae* OXA 48 isolée à partir d'une recherche de BMR rectale

Cas n°4 : 04/06/13 : *Klebsiella pneumoniae* OXA 48 isolée à partir d'une recherche de BMR rectale

Cas n°5 : 31/07/13 : *Klebsiella pneumoniae* OXA 48 isolée à partir d'une ECBU

Cas n°6 : 22/08/13 : *Klebsiella pneumoniae* OXA 48 isolée à partir d'une ECBU

Cas n°7 : 26/08/13 : *E. coli* OXA 48 isolée à partir d'une recherche de BMR rectale

Cas n°8 : 09/09/13 : *Klebsiella pneumoniae* OXA 48 isolée à partir d'une ECBU

Cas n°9 : 22/11/13 : *E. coli* OXA 48 isolée à partir d'une recherche de BMR rectale

Comment réduire le nombre de bactéries résistantes ?

Limiter l'utilisation des antibiotiques :

- Education du grand public : campagnes publicitaires
- Sensibilisation des médecins au bon usage des antibiotiques

Améliorer le dépistage des BMR et BHRe

- dépistage systématique ou en fonction de facteur de risques
- amélioration des techniques de laboratoire et du délai de rendu de résultat

Limiter la diffusion des BMR/BHRe :

- règles à mettre en place dans l'établissement de soins
- recommandations pour le personnel de soins
- Information du patient et de son entourage (fiche d'information Bioesterel)



Centre conseil en infectiologie : 04 92 03 96 88

Améliorer le dépistage des BMR et BHRe (1)



Au sein de l'établissement de soin

Dépistage des Entérobactéries BLSE (EBLSE) et des SARM

- ✓ écouvillonnage nasal et des plaies cutanées chroniques pour le SARM
- ✓ écouvillonnage rectal pour les EBLSE, EPC, ERV

Définir les patients à dépister :

- ✓ en fonction des facteurs de risques de portage : traitements antibiotiques, voyage en pays à risque, ATCD de BMR, séjour en établissements de soins...
- ✓ en fonction de l'écosystème de l'établissement de soins : intensifier les dépistages en cas d'apparition de BMR
- ✓ lors de geste invasifs (pré-opératoire)

Améliorer le dépistage des BMR et BHRe (2)



Techniques utilisées au sein de LBM Bioesterel

Confirmation de toutes les souches identifiées I/R à une C3G injectable ou à l'ertapénème

- ✓ Test de synergie en milieu MH et MH-cloxacilline pour identifier précisément les BLSE et les HCAZ (méthode de référence)
- ✓ Milieu MH/MH-Cloxacilline + disque d'ertapénème et d'imipénème pour les carbapénémases

En cas de dépistage de BMR : ensemencement de 5 géloses d'emblée :

- ✓ 2 géloses spécifiques pour les C3G (Ceftazidime/Céfotaxime) + test de synergie
- ✓ 1 gélose chromogène spécifique des Carbapénémases
- ✓ 1 gélose spécifique des OXA-48
- ✓ 1 gélose spécifique de *E. faecium* résistant à la vancomycine

En cas de doute, mise en place d'une collaboration avec le CHU de Nice pour PCR

A partir d'un écouvillonnage rectal : possibilité d'identifier une EPC en 24h et une BLSE en 48h

Fiche d'information

Fiche d'information transmise par le Laboratoire Bioesterel à tous les patients chez lesquels on dépiste une bactérie multi-résistante.

Vous êtes porteur d'une BACTERIE MULTI-RESISTANTE AUX ANTIBIOTIQUES (BMR)

Informations et précautions d'hygiène à respecter, recommandées au domicile afin d'éviter la transmission à votre entourage de la BMR

Laboratoire de Biologie Médicale
BIOESTEREL

Qu'est-ce qu'une BMR ?

Nous sommes tous porteurs de bactéries qui nous sont utiles et bénéfiques. Suite à des prescriptions répétées d'antibiotiques, les bactéries deviennent résistantes à plusieurs antibiotiques. Elles sont alors dénommées : bactéries multi-résistantes ou BMR. Les infections qu'elles peuvent causer sont alors plus difficiles à soigner.

Les soins

Signaler **systématiquement aux soignants** qui vous visitent (infirmier, médecin, aide-soignant, kinésithérapeute, pédicure, ambulancier...) que vous êtes **porteurs de BMR** afin qu'ils respectent les précautions indispensables pour éviter la contamination d'autres patients. *Vous pouvez mettre à leur disposition un savon qui leur sera réservé et des essuie-mains jetables.*

Au quotidien

Précautions d'hygiène à respecter pour vous et votre entourage

- **Hygiène corporelle quotidienne**
Utiliser votre savon habituel et du linge de toilette personnel.
- **Hygiène des mains**
 - ▶ **Après** être allé aux toilettes
 - ▶ **Après** avoir toussé ou éternué,...
 - ▶ **Après** avoir fumé
 - ▶ **Avant** de préparer des repas, de passer à table
 - ▶ **Après** avoir manipulé du linge souillé, des pansements, des poches à urines...
- **Entretien du domicile**
 - ▶ **Nettoyage des sanitaires et de la salle de bains** : employez votre détergent habituel, rincez. Après le nettoyage, utilisez de l'eau de javel.
 - ▶ **Entretien du linge** : température de 40°C minimum avec votre lessive.
 - ▶ **Nettoyage de la vaisselle et des ustensiles de cuisine** : pas de précaution.

le lavage des mains est le geste de base

Cas particuliers

- **Précautions pour votre entourage au domicile**
 - ▶ Si dans votre entourage il y a une **personne** particulièrement **fragile** (âgée, sous immuno-suppresseur...) respectez scrupuleusement les règles d'hygiène.
 - ▶ Avant de s'occuper d'un **nourrisson**, lavez-vous les mains. Ne sucez pas ses tétines, sa petite cuillère, et ne buvez pas dans son verre.

En cas de **nouvelle hospitalisation** dans les mois qui suivent, il est **IMPORTANT DE SIGNALER** à l'équipe soignante que vous avez été porteur de BMR.

Annexe 1 : Antibioville/Antibioguide

RÈGLES DE BON USAGE DES ANTIBIOTIQUES **A₁** POUR LIMITER L'EXTENSION DES RÉSISTANCES BACTÉRIENNES

- **Toute fièvre n'est pas infectieuse**, toute infection n'est pas bactérienne, toute infection bactérienne ne justifie pas obligatoirement un traitement antibiotique.
- Dans la plupart des cas, **le traitement antibiotique n'est pas urgent**. En cas de doute diagnostique, il est préférable de s'abstenir et de réévaluer.
- Un **diagnostic clinique précis et précoce** est un garant essentiel de la qualité de la prescription antibiotique. L'**utilisation des tests de diagnostic rapide** (TDR pour les angines, bandelette urinaire) permet d'éviter bon nombre de traitements antibiotiques inutiles.
- Limiter l'antibiothérapie aux infections **dont l'origine bactérienne est documentée ou probable** et pour lesquelles d'autres mesures thérapeutiques ne suffisent pas.
- La présence de bactéries sur un prélèvement **n'est pas toujours synonyme d'infection** (colonisation par exemple) et n'implique pas obligatoirement une antibiothérapie.
- Les antibiotiques ne sont pas le traitement symptomatique de la fièvre.
- Respecter les posologies et les modalités d'administration susceptibles d'assurer des concentrations d'antibiotiques appropriées au site de l'infection. Le sous-dosage des antibiotiques favorise l'émergence de résistances bactériennes.
- Préférer, parmi les antibiotiques à activité comparable, ceux ayant le spectre le plus étroit pour limiter l'impact sur la flore commensale.
- Limiter au maximum l'utilisation des quinolones, notamment dans les infections urinaires ou respiratoires. Ne pas utiliser une quinolone en traitement probabiliste si cette classe a été utilisée au cours des 6 derniers mois dans l'infection urinaire ou des 3 derniers mois dans l'infection respiratoire.
- Une antibiothérapie prolongée favorise la sélection de souches résistantes. **Privilégier les traitements courts avec réévaluation du choix initial au 3^{ème} jour.**
- Informer le grand public sur le bon usage des antibiotiques et sur l'efficacité des vaccins, permettant la baisse de la prescription des antibiotiques.
- Se laver les mains avec un produit hydro-alcoolique est un geste de base de l'hygiène, nécessaire pour éviter la transmission manuportée des infections et des bactéries multi-résistantes.

PRINCIPALES SITUATIONS CLINIQUES **A₂** où l'antibiothérapie n'est pas recommandée

FIEVRE ISOLEE

INFECTIONS ORL

- **Angines** : Si le TDR est négatif sauf si présence de facteurs de risque de RAA [Antécédent personnel de RAA, âge compris entre 5 et 25 ans et multiplication des épisodes d'angine à streptocoque ou séjours en région d'endémie (Afrique, Antilles...)], sauf enfant < 3 ans où le TDR est inutile.
- **Rhinopharyngite aiguë** en l'absence d'otite et de sinusite associée.
- **Sinusite maxillaire de l'adulte**, en l'absence d'une symptomatologie typique, en cas d'évolution favorable sous traitement symptomatique.
- **Sinusite de l'enfant** dans la forme subaiguë lorsque l'évolution sous traitement symptomatique est favorable.
- **OMA** chez l'enfant de plus de deux ans, et peu symptomatique.
- **OMA** congestive et séromuqueuse.
- **Otite externe** sauf otite externe maligne du diabétique.
- **Otorrhée sur drain.**

INFECTIONS RESPIRATOIRES BASSES

- **Bronchite aiguë de l'adulte sain, y compris chez les fumeurs.**
- **Exacerbation aiguë d'une bronchite chronique stade 0.**
- **Exacerbation aiguë d'une bronchite chronique obstructive stades I, II ou III** en l'absence de franche purulence verdâtre des crachats.
- **Bronchiolite du nourrisson** si l'évolution est favorable en 72 heures, et en l'absence d'OMA et de pneumonie ou d'atelectasie.
- **Bronchite ou trachéobronchite de l'enfant** si l'évolution est favorable en 72 heures.

INFECTIONS URINAIRES

- **Bactériurie asymptomatique** (sauf grossesse) y compris sur sonde.

INFECTIONS PAR INOCULATION

- **Piqûre de tiques** dans les 48 premières heures.

Coproculture

- Recherche en systématique des *Campylobacter*, *Salmonelle*, *Shigelle*
- Recherche des *Yersinia* uniquement chez les individus de moins de 20ans ou en cas de selles diarrhéiques
- Recherche de *Clostridium* : uniquement sur prescription explicite
 - Dépistage de la GDH
 - Dépistage des toxines A et B

La culture de *Clostridium difficile* n'est pas réalisée (moins sensible que la GDH). Elle peut présenter un intérêt pour la recherche de souche O27 (voire pour la réalisation d'un antibiogramme)

- Recherche d'adénovirus et rotavirus : réalisée systématiquement chez l'enfant de moins de 2 ans. Sinon réalisé uniquement sur prescription explicite
- Recherche de BMR : réalisé uniquement sur prescription explicite.

ECBC (examen cyto bactériologique des crachats)

BIOSTEREL
Laboratoire de Biologie Médicale

- Importance des conditions de recueil :
 - Se rincer la bouche
 - Se moucher pour dégager l'arrière-gorge de toute mucosité
 - Se sécher la bouche en avalant la salive
 - Faire un effort de toux profonde (si besoin lors d'une séance de kinésithérapie respiratoire)
- l'expectoration ne doit pas être salivaire

Intérêt :

Prélèvement relativement simple

Permet d'identifier un ou plusieurs germes potentiellement pathogènes et de réaliser des antibiogrammes

- meilleur choix de l'antibiotique utilisé en thérapeutique
- adaptation de posologie pour les pneumocoques de sensibilité diminué à la pénicilline (PSDP)

Antigènes solubles urinaires



Principaux antigènes solubles réalisés :

- *Streptococcus pneumoniae* (35€ HN)
- *Legionella pneumophila* séro groupe 1 (80% des infections à Legionelle sont causées par le séro groupe 1 (B90))
- VRS

Antigène légionelle et pneumocoque :

- sensibilité et spécificité d'environ 80%
- ne permet pas de suivre les récurrences ou les pneumopathies à répétition (persistance de l'antigène pendant plusieurs mois après l'infection)
- Antigène pneumocoque : peu d'intérêt chez l'enfant (portage de pneumocoque au niveau pharyngée)

Intérêt :

- Prélèvement simple , délai de rendu des résultats rapides
- Permet de poser un diagnostic étiologique et de choisir une antibiothérapie adaptée à spectre plus étroit (amoxicilline pour le pneumocoque, macrolide ou ofloxacine pour les Legionelles)
- Intérêt plus important en cas d'épidémie de Légionellose, de pneumopathie aiguë communautaire avec signes de gravité (leucopénie, asplénie, alcoolisme chronique) ou d'échec thérapeutique à 48-72h après un traitement probabiliste

Antigène VRS sur prélèvement nasopharyngé (intérêt principalement en pédiatrie en phase épidémique)

Intérêt des PCR en bactériologie



- PCR (polymerase chain reaction) :

Technique qui permet de détecter spécifiquement l'ADN d'une bactérie

Intérêt :

Principalement pour les germes fragiles ou de culture difficile ou de culture lente :

- *Chlamydia trachomatis* / *Neisseria gonorrhoeae* (réalisé chez Bioesterel au sein de l'Arc Méditerranéen)

- 1^{er} jet d'urine chez l'homme

- prélèvement au niveau de l'endocol chez la femme

éventuellement par auto-prélèvement (le 1^{er} jet d'urine peut être accepté pour faire du dépistage systématique)

- *Bordetella pertussis* : prélèvement nasopharyngé

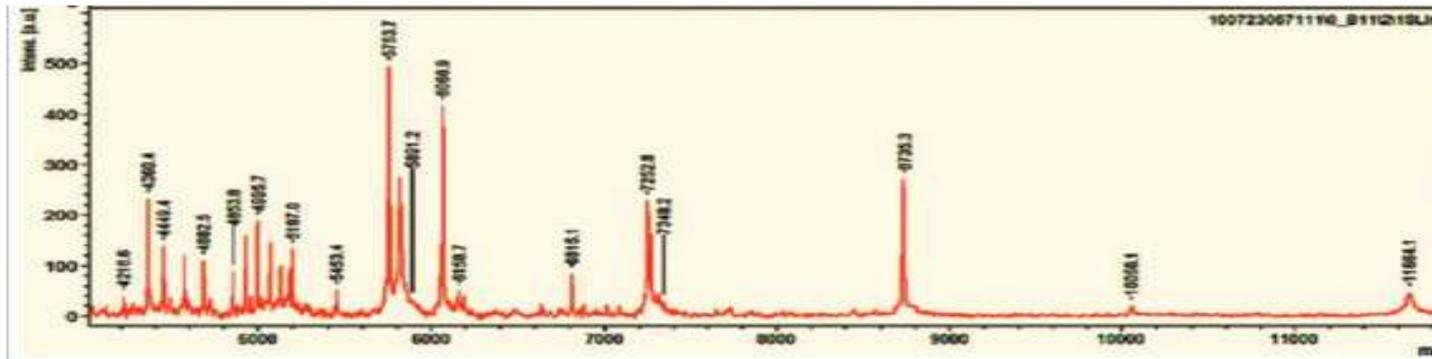
- Mycobactéries (*Mycobacterium tuberculosis*)

- PCR universelle :

Amplification de l'ARN ribosomal et séquençage → permet l'identification d'une bactérie (réalisé en partenariat avec le CHU de l'Archet)

Nouvelle technologie : la spectrométrie de masse

Analyse du spectre protéique d'une bactérie
Identification par comparaison à une base de données



d'obtenir une identification en moins d'1 minute (contre 8 à 24h pour les identifications biochimiques classiques)

Intérêt :

- Amélioration du délai de rendu de résultats
- Meilleure sensibilité et spécificité que l'identification biochimique
- Gain de temps majeur pour les germes d'identification difficile (gain > 48h)
- Possibilité de lancer une identification directement sur les flacons d'hémoculture (gain de 48h)
- Possibilité de détecter la présence de carbapénémases (Mai 2014)



Installation
sur le plateau
technique de
Mouans-
Sartoux en
Septembre
2014

5

Immuno-Chimie

Guillaume Armana

Intérêt du dosage de l'Urée?:

- Ratio (Urée_{pl})/(Créat_{pl})>100 → en faveur d'une **IRA fonctionnelle**
- Anémie+ **Élévation Urée** avec Créatinine Nle → Evocateur **Hémorragie digestive Haute**

Peu d'intérêt en pratique courante



Dépister la Maladie rénale Chronique:

**Persistance > 3mois de
Marqueurs d'atteinte rénale***

- Protéinurie ou Micro albuminurie sur échantillon

Albuminurie/créatinurie **>30mg/mmol (300mg/g)**
Protéinurie/ créatinurie **>50mg/mmol(500mg/g)**
Protéinurie des 24h **> 0,5g**

- Bandelette urinaire et ou cytologie urinaire

Hématurie: **>10 hématies/mm³** ou >10000 hématies/ml
Leucocyturie: **>10 Leucocytes/mm³** ou >10000 Leuco/ml

- Estimation du Débit de Filtration Glomérulaire

Débit de Filtration Glomérulaire **> 60ml/min/1.73m²**



- ✓ Dosage de la créatinine par **méthode enzymatique raccordée à l'IDMS**
- ✓ Privilégier la **formule du CKD-EPI**

Chlore^[B0] :

Le chlore est le principal anion du liquide extracellulaire et joue un rôle important dans l'équilibre acido-basique

- évolution **parallèle du taux plasmatique avec la natrémie** :
donc on se limitera à la détermination de Na seul et non du couple Na-Cl.
- étroitement lié aux variations des **bicarbonates** :

CO₂ - Bicarbonate - Réserve alcaline^[B7]

Les bicarbonates représentent le principal tampon de l'organisme face à une agression acide. Leur dosage rend compte de l'équilibre acide-base dans l'organisme, mais aussi de sa régulation tant au point de vue rénal que respiratoire.

- Les bicarbonates sont élevés (>28 mmol/l) dans :
Les insuffisances respiratoires chroniques
Les alcaloses métaboliques par vomissements répétés ou diarrhées
- Les bicarbonates sont abaissés dans :
Les acidoses métaboliques, acidocétoses, l'insuffisance rénale, les insuffisances hépatiques sévères..



Chlore :

Le chlore est le principal anion du liquide extracellulaire et joue un rôle important dans l'équilibre acido-basique

- évolution **parallèle du taux plasmatique avec la natrémie** :

donc on se limite à la mesure de la Na^+ et Cl^-

- étroitement

**Pas d'intérêt
en
médecine ambulatoire**

CO₂ - Bica

Les bicarbo

Leur dosage
régulation

Les bicarbo

Les insuffisanc

Les alcaloses métaboliques par vomissements répétés ou diarrhées

Les bicarbonates sont abaissés dans :

Les acidoses métaboliques, acidocétoses, l'insuffisance rénale, les insuffisances hépatiques sévères..

Intérêt du dosage de la Gamma-GlutamylTranspeptidase?

Dans le Cadre du bilan Hépatique:

ASAT ALAT GGT PAL BIL TP ALB

Cytolyse hépatique
(ALAT>ASAT)

Cholestase
(PAL>3N)
(BIL T+Co)

Insf.Hepato-cellulaire
(TP<50%)

Intérêt du dosage de la Gamma-GlutamylTranspeptidase?

La Cholestase:

Les Phosphatases alcalines totales^[B7]

Production foie, os , intestin, placenta, rein

Élévation dans les atteintes hépatiques cholestatiques

Élévation chez enfant, grossesse, MICI, maladie osseuses..

→Recontrôle à jeûn (PAL intestinale)

Les Gamma GT^[B7]

Production principalement par hépatocytes

Son élévation **signe l'origine hépatique de l'élévation de la PAL (>3N)**

→**ATTENTION possible Faux négatif chez femme enceinte (sels biliaires)**

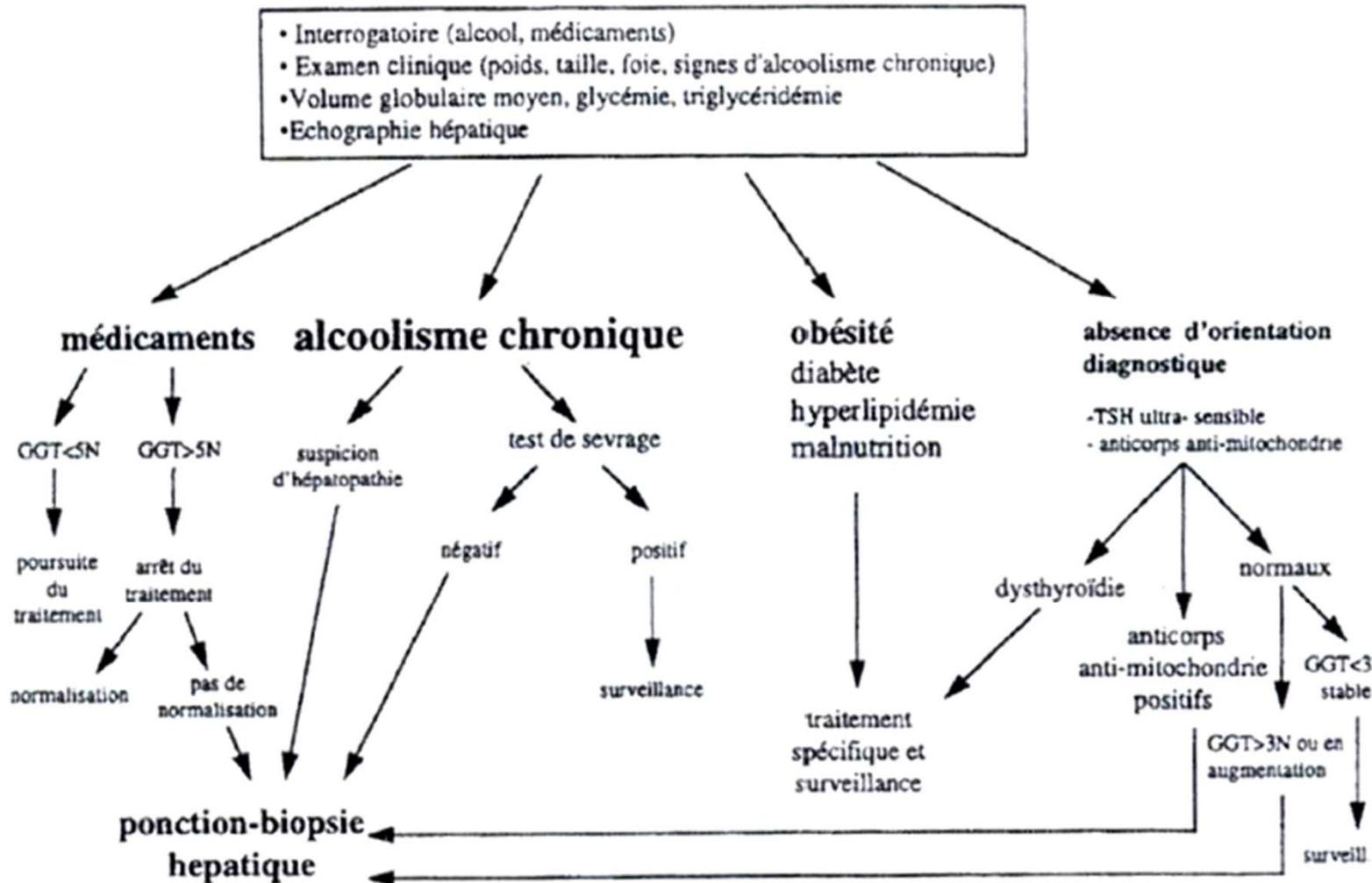
Nombreuses causes d'élévations (hépatique, rénale, cardiaque, TTT....)

5 à 10% de la population générale GGT élevé

Ne doit pas être utilisé comme test de screening d'une maladie hépatique

Intérêt du dosage de la Gamma-GlutamylTranspeptidase?

Élévation isolée des GGT: Motif fréquent de consultation chez patient asymptomatique



Intérêt du dosage de la Carboxy Deficient Transferrin ^[B55] ?

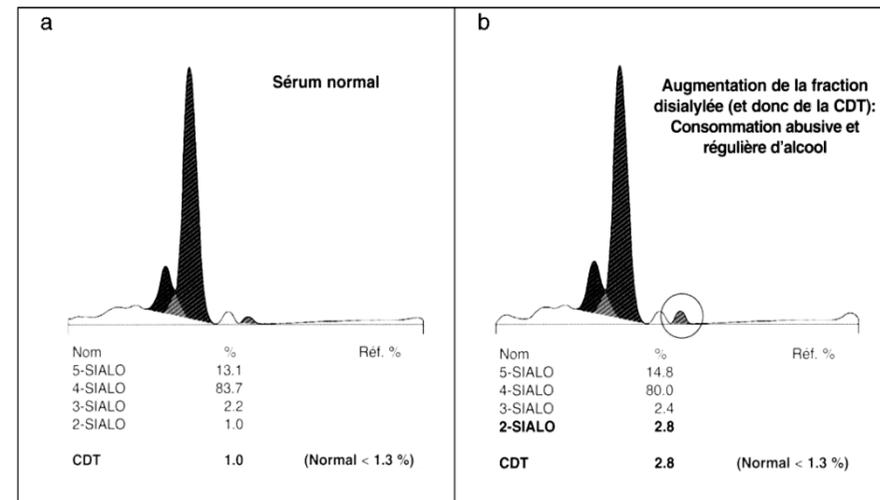
Physiopathologie de la **Transferrine désialylée**:

Transferrine synthèse et sécrétion **hépatique**

L'OH pas d'action sur la production de CDT

mais **inhibition de la sialylation (>50g/j OH)** → Désialylation partielle (2-SIALO=CDT)

(En principe ajout de 4 à 6 résidus d' Ac Sialique (Mb cellulaire))



*Dosage par électrophorèse capillaire
Avec détection par absorbance des protéines à 200nm*

Intérêt du dosage de la Carboxy Deficient Transferrin^[B55] ?

Les différents marqueurs biologiques de l'intoxication éthylique

Tableau 1 Comparatif des caractéristiques des marqueurs biologiques utilisés en France, pour le diagnostic et le suivi des patients abuseurs de boissons alcooliques.

	CDT	γGT	VGM
Sensibilité	39–94 %	34–84 %	15–69 %
Spécificité	82–97 %	11–85 %	26–91 %
Demi-vie (jour)	14–17	14–21	90
Retour à la normale (semaine)	4	8	12
Quantité d'alcool modifiant le seuil normal	50–80 g/jour	80–200 g/jour	Non établi
Durée de la consommation modifiant le seuil	1 semaine	Plus de 2 semaines	Non établi
Interférences	Grossesse VGDT, CDGS	Cirrhose du foie Pancréatite Cholestase, Infarctus Carbamazépine Barbituriques Antidépresseurs Obésité, Diabète Contraceptifs oraux	Déficit en vitamine B12 et folates Pathologies thyroïdiennes Tabagisme Hépatopathies non alcooliques Anémie de Biermer

VGDT : variant génétique D de la transferrine ; CDGS : *carbohydrate-deficient glycoprotein syndrome*.

GGT: Test peu couteux mais interprétation délicate

Pas de relation entre le taux de GGT et la quantité d'OH consommé

VGM: Beaucoup trop de Faux négatifs...et FP (Macrocytose) et trop long

CDT: indépendant du sexe , âge, IMC, l'origine ethnique, ni du tabagisme.

supplante les anciens marqueurs d'alcoolisme (Se / Sp approchant des 90%)

Indications:

Diagnostic précoce d'une pathologie alcoolique

La CDT tant augmenté (14jours) avant les GGT

Suivi des traitements de sevrage

A l'arrêt de l'intoxication, la CDT revient à la normale en **2-4semaines**

Patient son propre Témoin → suivi du Taux (*like HbA1c pour Diabète*)

Détecter une rechute, en cas de ré-alcoolisation la CDT **remonte en quelques jours**

Dépistage ciblé

Clinique évocatrice mais GGT normaux

Prévention routière, médecine du travail

Valeurs de référence:

CDT < 1,3% patient normal

CDT [1,3%-1,7%] pas de conclusion possible

CDT > 1,7% résultat anormal

VITESSE DE SEDIMENTATION

Les limites:

Manque de Sensibilité et de Spécificité:

La VS n'est **pas spécifique d'un Sd Inflammatoire**

Indicateur très tardif:

80% lié au fibrinogène 48h/92h après début RI

VS élevé → CRP+ Electrophorèse des protéines

Intérêt:

Bilan de dépistage au long cours à un moindre coût

Couple VS-CRP:

Suspicion de Viroses non surinfectées

Connectivites/collagénoses : (**LED**, sclérodermie,

Sd de Gougerot-Sjögren, polyomyosite)

→ Syndrome inflammatoire Aigu :
la CRP doit remplacer la VS



TABLEAU

Principaux facteurs influençant la vitesse de sédimentation

□ Augmentation

- ✓ Sexe féminin
- ✓ Âge
- ✓ Obésité
- ✓ Anémie
- ✓ Grossesse
- ✓ Hypercholestérolémie
- ✓ Maladies inflammatoires quelle qu'en soit la cause
- ✓ Hyper-γ-globulinémie mono- ou polyclonale
- ✓ Insuffisance rénale
- ✓ Syndrome néphrotique

□ Diminution

- ✓ Cryoglobulinémie
- ✓ Polyglobulie
- ✓ Hypofibrinogénémie



PROTEINE C REACTIVE

Physiopathologie

Protéine de la phase Aigue l'inflammation

Synthèse hépatique

Détection **4 à 6 heures** après stimulus

T1/2 de l'ordre de 10 heures (variation d'un facteur 10 à 400)



PROTEINE C REACTIVE

Indications

Valeur discriminante pour une origine infectieuse :

- Bonne Sensibilité (71-100%) Mais manque de Spécificité (66-85%)
- Notion de valeur seuil: → CRP > 150 mg/l + Polynucléose
- Syndrome appendiculaire



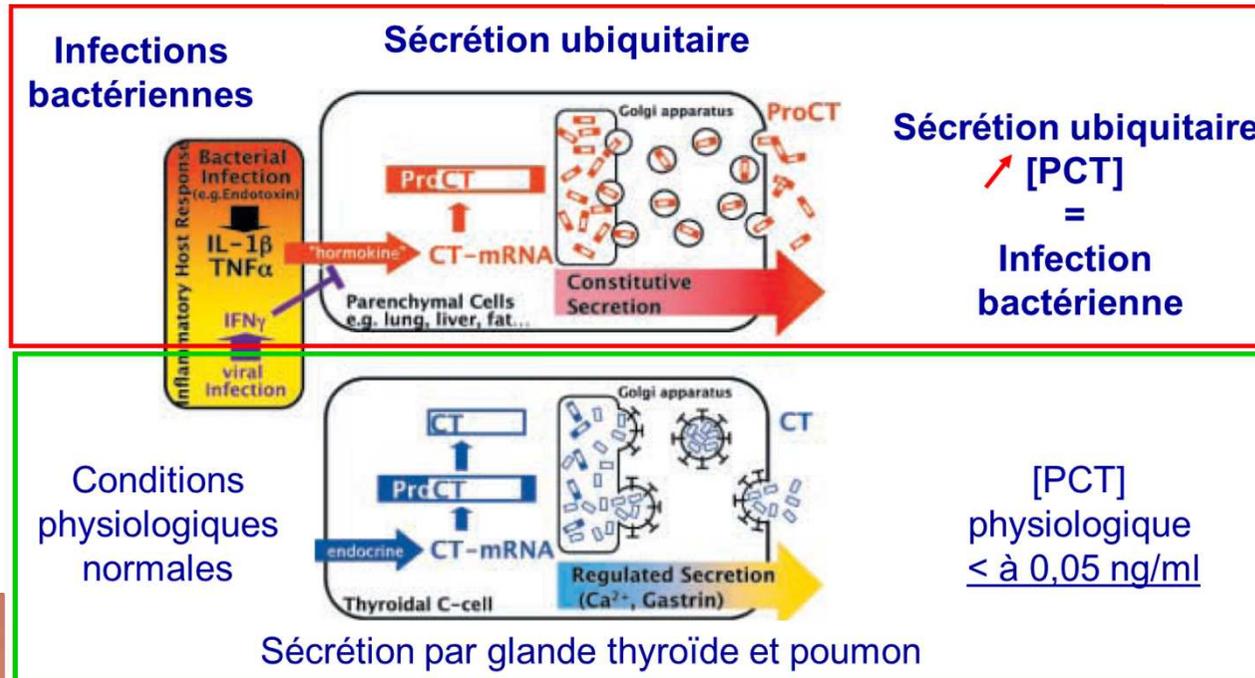
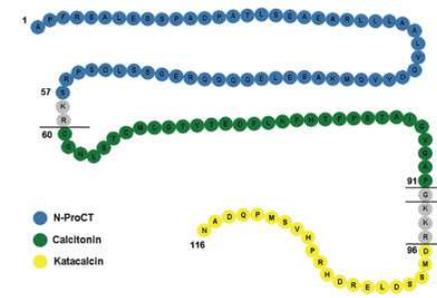
Cinétique permet le **suivi de l'efficacité des TTT des Maladies infectieuses/Inflammatoires**

Limites

Insuffisance hépatique (-)
Grossesse, Hyper oestrogénie (+)
Les connectivites/Vascularite (LED)

PROCALCITONINE

Physiopathologie:



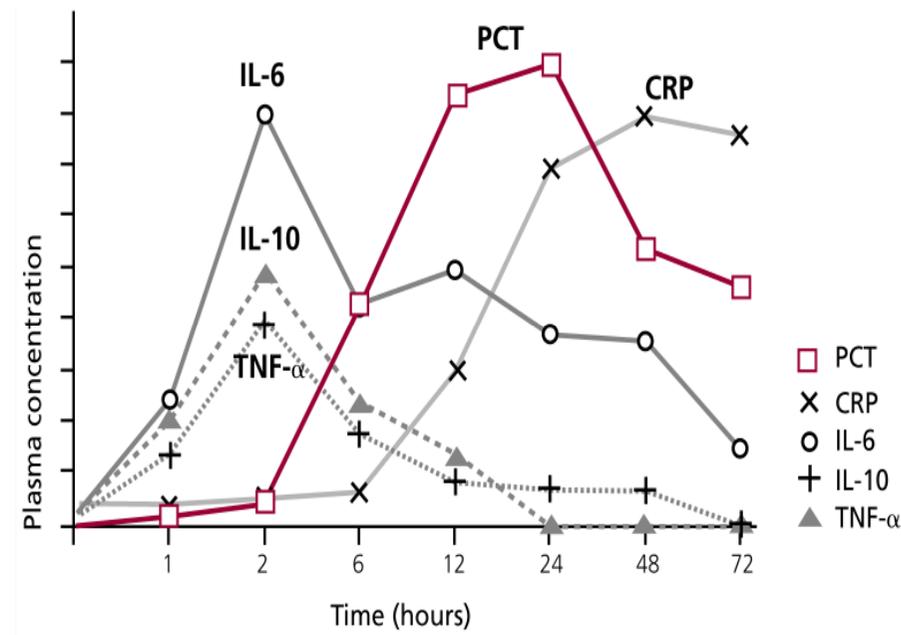
PROCALCITONINE

Physiopathologie:

Détection 3 à 4 h après début de l'infection

Pic de sécrétion entre 6 et 12h

T_{1/2}: 25 à 30 h

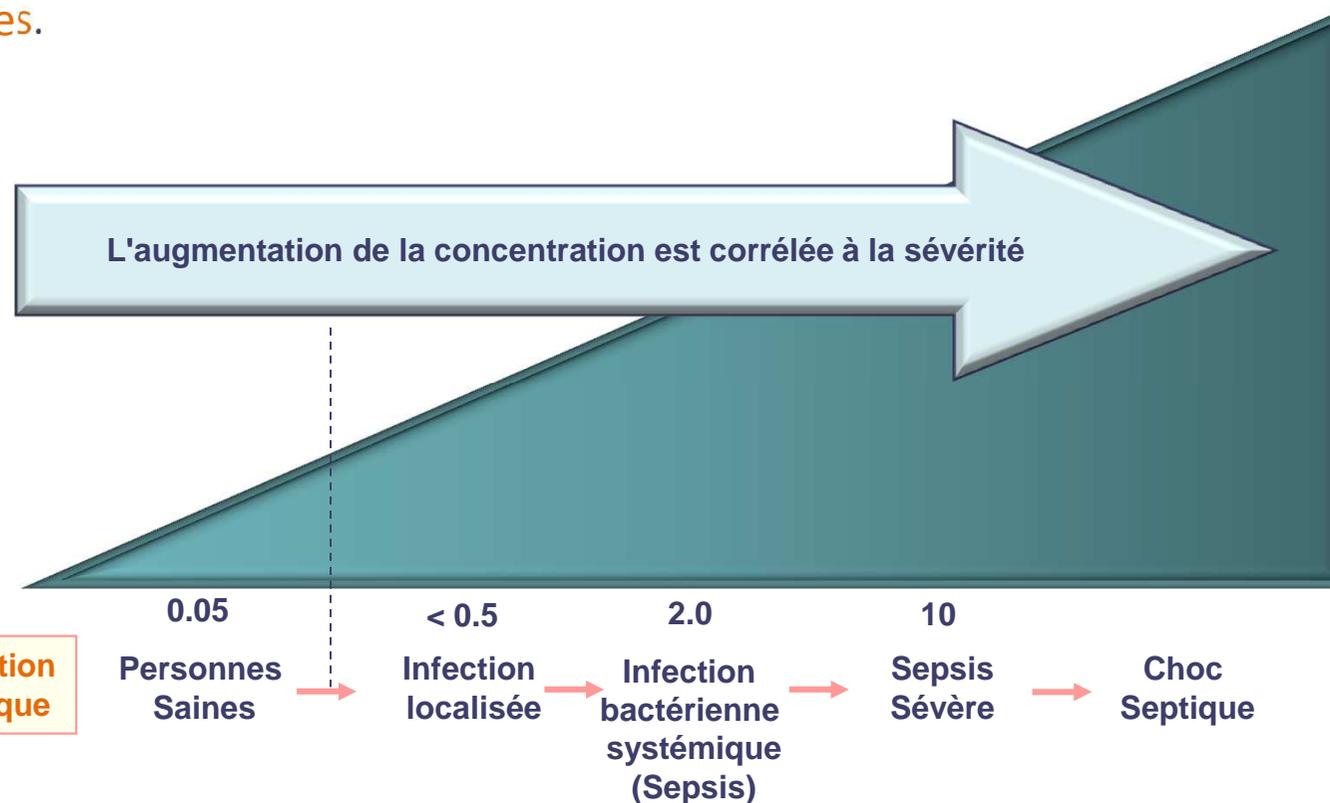


PROCALCITONINE

Physiopathologie:

Marqueur précoce, sensible, spécifique et stable des infections bactériennes, parasitaires et fongiques **sévères**.

Concentration **corrélé à la gravité** de l'infection et est une aide à la **prescription d'antibiotiques**.



Situation
Clinique

PROCALCITONINE

Indications:

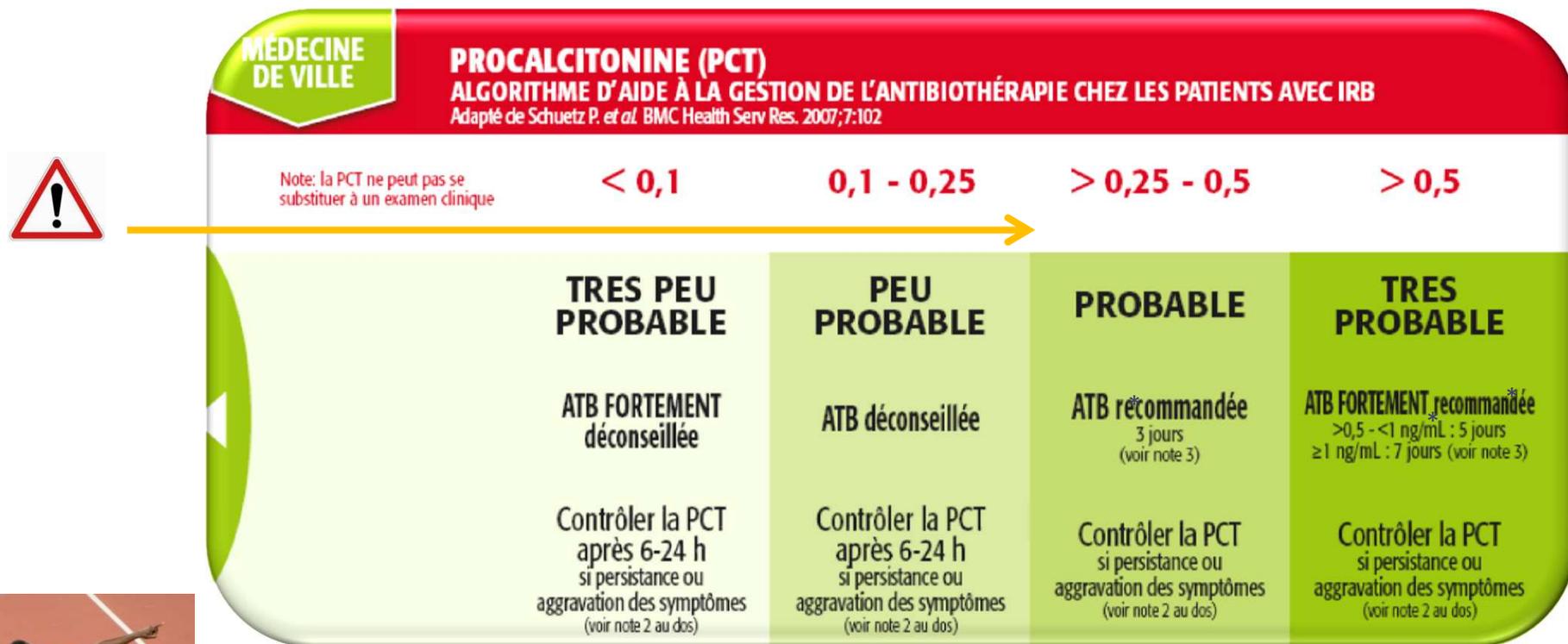
- ✓ Diagnostic précoce *infection materno-fœtale*
- ✓ Distinction entre *méningite* bactérienne vs virale (Se 89%;Sp 89%)
- ✓ Prédiction de *lésions rénales* chez enfant >3mois + PNA et PCT >0,5 ng/ml
- ✓ En réanimation/ SAU: Dc d'exclusion origine bactérienne (0,2ng/ml) et Pronostic (>2ng/ml)
- ✓ Prise en charge des suspicions Pneumopathies Aigues communautaires:



PROCALCITONINE

Indications:

- ✓ Prise en charge des suspicions Pneumopathies Aigues communautaires:



Durée traitement proposée dans l'étude ProREAL, Albrich WC *et al.* Arch Intern Med 2012

Tiré de : Schuetz P *et al.* BMC 2007
Note 2 : Christ-Crain M *et al.* Am J Resp Crit Care Med 2006
Note 3 : Stolz D *et al.* Chest 2007

PROCALCITONINE

Interprétations (technique semi-quantitative Brahms):

- ❑ <0,5 ng/ml: sepsis improbable, infection locale possible
- ❑ [0,5-2,0] ng/ml: infection bactérienne possible; Contexte clinique → contrôle 24h
- ❑ [2,0-10,0] ng/ml: infection bactérienne systémique probable
- ❑ >10ng/ml: sepsis bactérien sévère ou choc septique

Les Limites:

Faux Négatifs

Antibiothérapie préalable (T1/2)

Phase très précoce <6h

→ redoser PCT H6-H12

Infection localisée (abcès)

Maladie inflammatoire



Faux Positifs:

Infections parasitaires, fongique

Chirurgie, polytraumatisé, arrêt cardiaque

Cancers poumon et thyroïde

Atteinte hépatique Aigues

Nné < 48h

TTT immunosuppresseurs

Merci de votre attention ...

FIN