



Lyon 1

Introduction à la Sémiologie Biologique :

de la prescription à l'interprétation d'un examen de biologie médicale (EBM)

Florence Roucher-Boulez



UE 3: Bases moléculaires et cellulaires des pathologies

29/08/2024

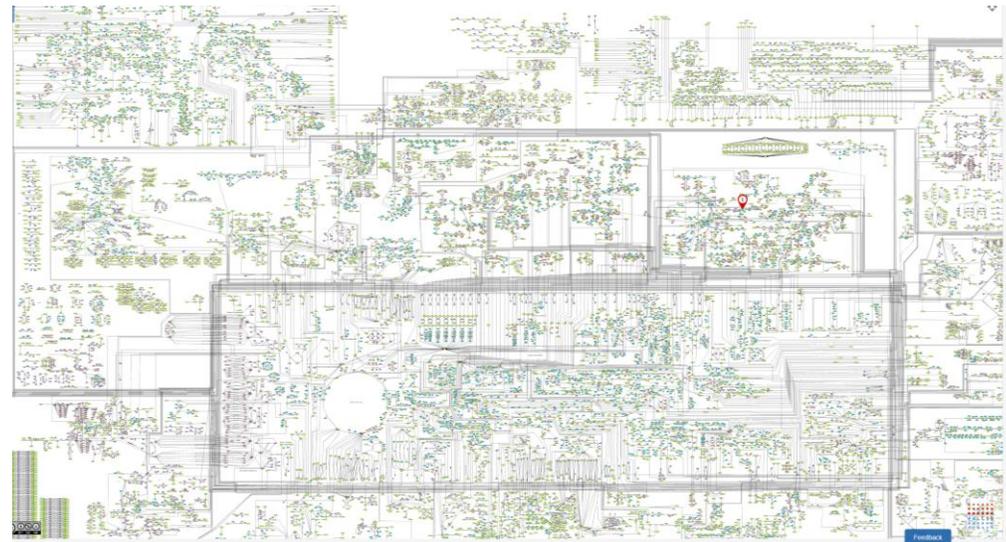
- **Sémiologie** = discipline médicale qui étudie les signes (symptômes) des maladies
- **La Sémiologie Biologique** est l'étude des signes biologiques qui participent au diagnostic d'une pathologie

- **La biochimie**

Science qui étudie

- la structure des molécules vivantes
- leur concentration dans chaque cellule ou dans chaque liquide biologique
- leur mode de formation (biosynthèse, anabolisme)
- leur transport et leur mode de destruction (dégradation, catabolisme)

- **La google map du métabolisme**



- **La biochimie**

Science qui étudie

- la structure des molécules vivantes,
- leur concentration dans chaque cellule ou dans chaque liquide biologique,
- leur mode de formation (biosynthèse, anabolisme),
- leur transport et leur mode de destruction (dégradation, catabolisme)

- **Application de la biologie à la clinique (ex biochimie)**

- en mesurant les concentrations de substance dans divers liquides biologiques ou cellules / ou détection
 - d'une manière ponctuelle (statique)
 - d'une manière dynamique par des explorations fonctionnelles (ex: HGPO)

- **Comprendre les bases moléculaires et cellulaires perturbées en pathologie**
- **Quels sont les marqueurs biologiques, dans quel contexte**
- **Quelles sont les techniques d'analyses et les différentes étapes**



Permettre une bonne prescription d'actes de biologie, savoir les interpréter en tenant compte du contexte, des limites, des pièges

Emploi du temps UE3

ENSEIGNEMENT	DATES 2024-2025	HORAIRES	DUREE	ENSEIGNANTS	THEMES	SALLES
Sémiologie biologique	Jeudi 29/08/2024	15-17h	2	FR	BMCP - CM Intro à la sémio bio	Amphi B, Amphi A
Sémiologie biologique	Vendredi 06/09/2024	13-15h	2	CJ	BMCP - CM Métabolisme du glycogène glycogénoses / Stress Ox	Amphi C, Amphi B
Bases Moléculaires des pathologies	Lundi 09/09/2024	13-15h	2	FR	BMCP - CM Stéroïdes	Amphi A
Sémiologie biologique	Lundi 16/09/2024	13-14h	1	JL	BMCP - CM Liq ponction /eq. ac-base	Amphi A
UE10 Pneumo	Lundi 16/09/2024	14h-15h	1h à la suite du cours de l'UE BMCP « liq ponction/eq acide base	JL	BMCP - CM GDS	Amphi A
Bases Moléculaires des pathologies	Lundi 30/09/2024	13-15H	2	FR	BMCP - CM Sémio hépatique	Amphithéâtre 4 Laennec, Amphithéâtre 1 Laennec
Bases Moléculaires des pathologies	Lundi 07/10/2024	15-16h	1	FR	BMCP - CM Lipides (1) Métabolisme des lipoprotéines	Amphi C, Amphi B
Sémiologie biologique	Mercredi 09/10/2024	13h-15h00	2	FR	BMCP - CM Lipides (2) Sémio des dyslipidémies	Amphi A

Sémiologie biologique	Vendredi 11/10/2024	15-17h	2	CJ	1) maladies lysosomales 2) hyperuricémie	Pas De Salle Disponible (2)
Sémiologie biologique	Vendredi 25/10/2024	13-15h	2	JL	BMCP - CM Marqueurs tumoraux	Amphi C, Amphi B
Sémiologie biologique	Mercredi 30/10/2024	13-15h	2	JL	BMCP - CM Métabolisme Hydroélectrolytique	Amphithéâtre 1 Laennec, Amphithéâtre 4 Laennec
Bases Moléculaires des pathologies	Lundi 04/11/2024	13-15h	2	CJ	BMCP - CM Protéine Sd inflammatoire	Amphi C, Amphi B
Bases Moléculaires des pathologies	Mardi 05/11/2024	13-14h	1	CJ	BMCP - CM Catabolisme aa (cycle urée) / Voie des pentoses phosphate	Amphi B
Sémiologie biologique	Mercredi 13/11/2024	15-17h	2	CJ	Cas cliniques + initiation ECOS	Amphi C, Amphi B
Sémiologie biologique	Mardi 19/11/2024	13-15h	2	FR	BMCP - CM 1) Cétogénèse 2) Patho des Rc	Amphi A
Bases Moléculaires des pathologies	Vendredi 29/11/2024	15-17h	2	CJ	BMCP Cas cliniques	Amphi C, Amphi B

+ sémiologie biologique dans UE spécifique 9,11,14



Jonathan Lopez



Clement Janot



Florence Roucher

- Qu'est qu'un examen de biologie médicale ?
- Les étapes de réalisation d'un examen de biologie médicale
- Son interprétation



**Ne pas tout attendre d'un examen ,
un lien clinico-biologique indispensable**

- I/ Qu'est ce qu'un examen de biologie médicale (EBM) ?
- II/ La prescription
- III/ L'EBM
 - 1. Etape pré-analytique
 - 2. Etape analytique
 - 3. Etape post-analytique
- IV/ La biologie délocalisée



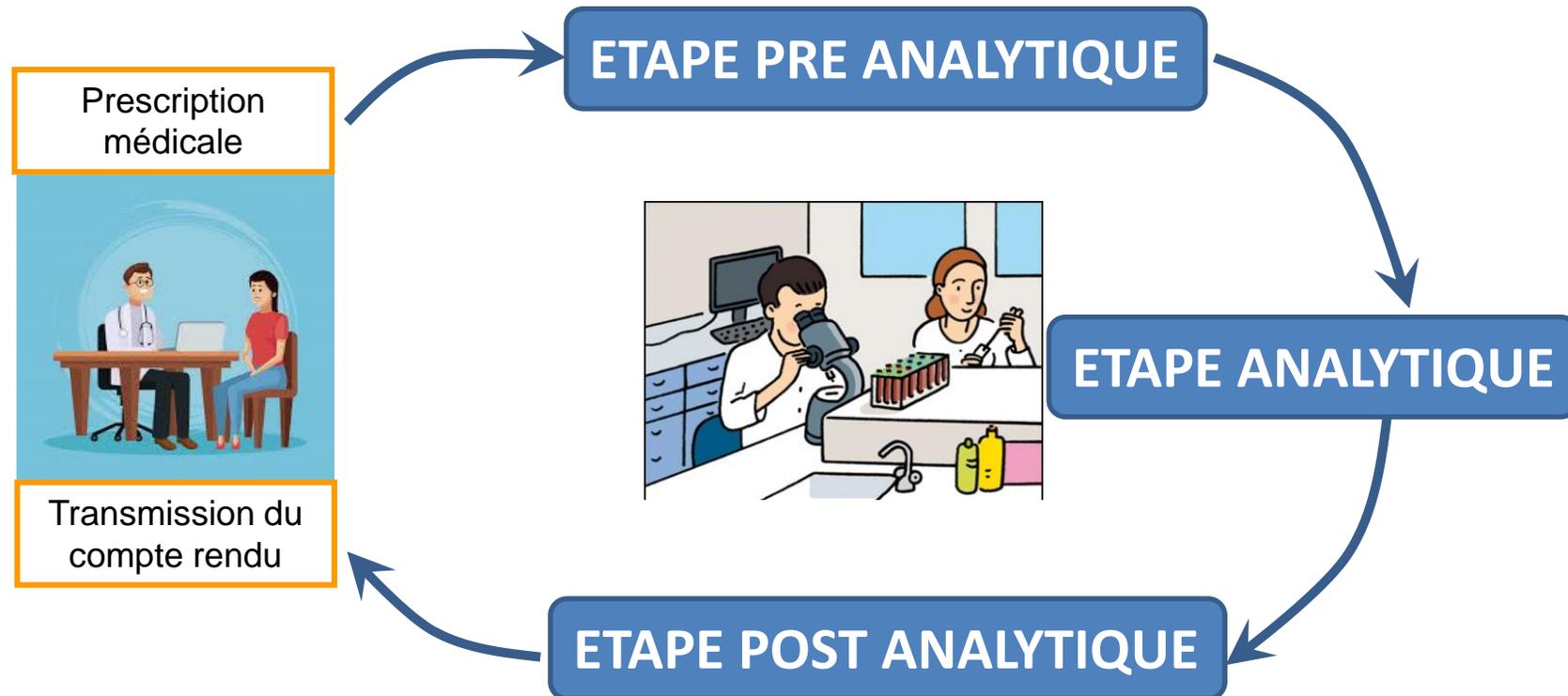
- **Visée diagnostique :**
 - **Modification qualitative ou quantitative de paramètres biologiques**
Ex: Troponine dans l'infarctus du myocarde ...
 - **Mise en évidence d'analytes normalement absents**
 - **Mise en évidence d'agents infectieux dans le sang**
- **Surveillance thérapeutique :**
 - **Déterminer l'efficacité d'un traitement, intoxication** ex: HbA1c, ATB, paracétamol...
 - **Déterminer la persistance d'un médicament dans le sang (observance du traitement)**
- **Visée pronostique:** hypothèse faite sur l'évolution d'une maladie ex: BNP dans l'IDM
- **Prévention / Dépistage** (estimer la probabilité d'existence de la maladie et non de déterminer la présence ou l'absence d'une maladie)
 - **Trisomie 21**
 - **Test de Guthrie à la naissance**

Qu'est ce qu'un examen de biologie médicale ?

I/ Qu'est ce qu'un EBM?
II/ La prescription
III/ L'EBM
IV) La biologie délocalisée



- Ce n'est pas seulement une analyse
- mais un ensemble d'étapes (3) allant



- **Rapport Ballereau** : tout résultat sous la responsabilité du biologiste

- **Plusieurs intervenants**

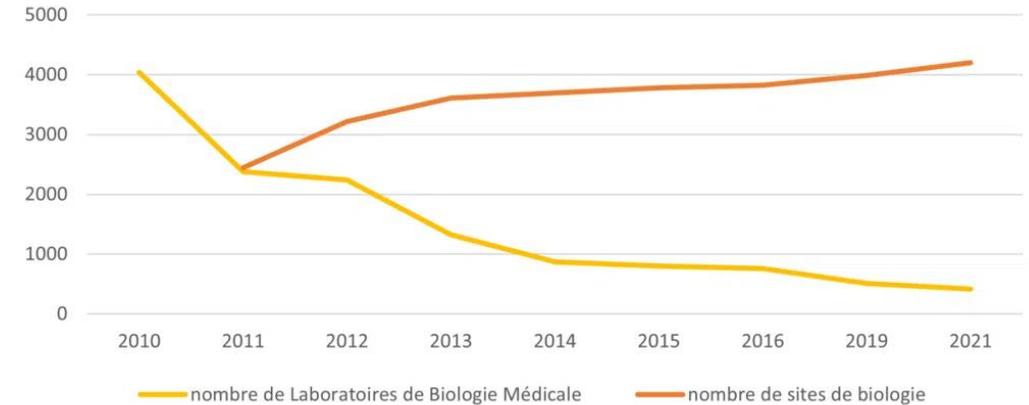
- **Patient**

- **Prescripteur: le médecin**

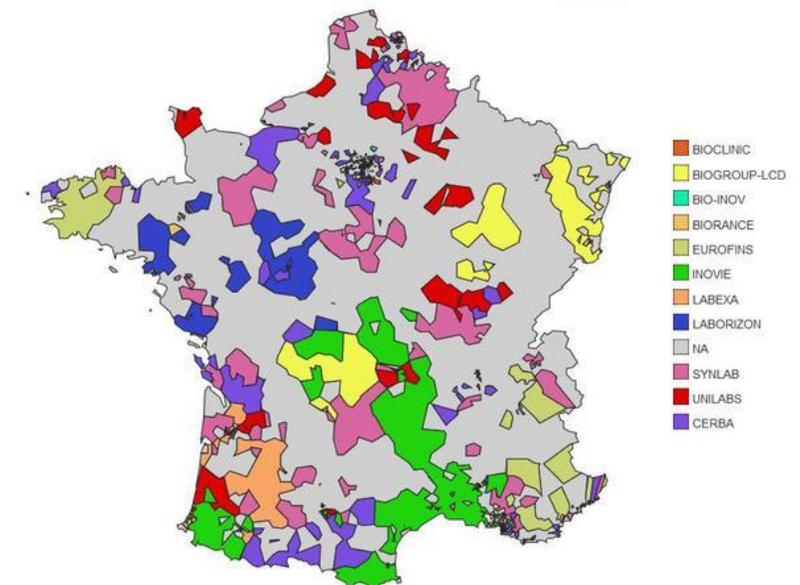
- **Le laboratoire de biologie médicale (LBM)**

- **Personnels** Médecin ou Pharmacien Biologiste, Techniciens, Ingénieurs, Secrétaires
- **2 types de laboratoires:** Hospitaliers publics vs. Privés
70 % de la biologie médicale en France sont réalisés par les laboratoires privés
- **Type d'examens**
Discipline polyvalente: biochimie, toxico, immuno, hémato, bactério, viro, parasito, diagnostic moléculaires, ...
Routine: « non spécialisés » dits « de proximité »
Examens spécialisés
Notion d'urgence et gardes

- Les laboratoires de biologie médicale (LBM) devenus multi-sites:
 - 5 000 LABM en 2008 à environ 400 LBM aujourd'hui
 - Environ 4 200 sites: pré- et post analytique – 700 plateaux techniques
 - 40 % du marché entre les mains de 3 acteurs : Biogroup, Cerba et Inovie

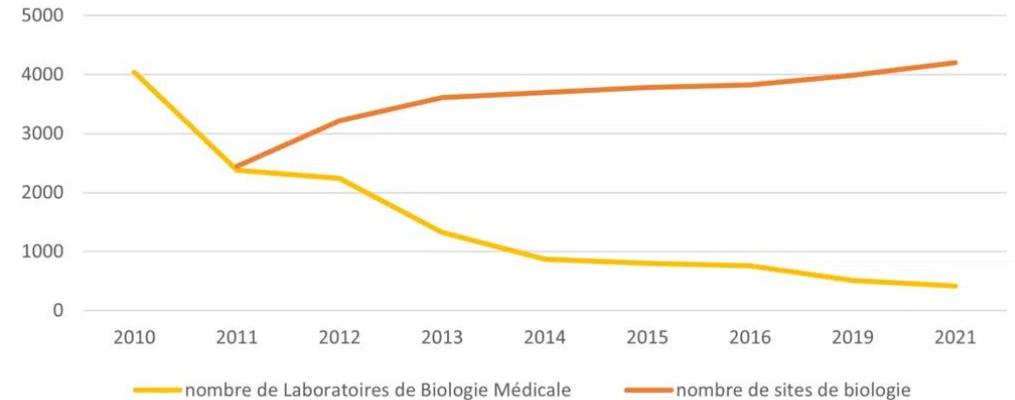


Évolution du nombre d'établissements privés de biologie médicale entre 2010 et 2021 (Source XERFI, 2022)



- Hausse des dépenses d'analyses

Covid-19, vieillissement de la population, campagnes de dépistage, augmentation de la réalisation de tests génétiques....



- Des contraintes avec un poids économiques

- Financières : les tarifs pratiqués par les laboratoires sont limités par les pouvoirs publics engagés dans une dynamique de maîtrise des dépenses de santé
- Recommandations HAS sur fréquence, hiérarchie, consensus des sociétés savantes , bénéfiques individuels et collectifs
- **Obligation d'accréditation** longues à obtenir et onéreuses



- **Prises en charges des actes:**

- Par l'hôpital et la sécurité sociale

- Facturation :

- code NABM (Nomenclature des Actes de Biologie Médicale)

- B = 0,27€

- BHN (Hors Nomenclature) dont RIHN (Référentiel des actes Innovants HN)
(prise en charge hospitalière)

- Notion de budget global ou tarification à l'activité (T2A) ou consultation

Biologie Médicale : extraits de la nomenclature des actes

CHAPITRE 10 - Hormonologie

CHAPITRE 11 - Enzymologie

CHAPITRE 12 - Protéines - Marqueurs tumoraux - Vitamines

CHAPITRE 13 - Biochimie

- . sous-chapitre 13-01 : sang
- . sous-chapitre 13-02 : liquide céphalo-rachidien
- . sous-chapitre 13-03 : urines
- . sous-chapitre 13-04 : coprologie fonctionnelle
- . sous-chapitre 13-07 : calculs
- . sous-chapitre 13-08 : liquides de sérosité
- . sous-chapitre 13-09 : sueur
- . sous-chapitre 13-10 : épreuves fonctionnelles

CHAPITRE 14 - Médicaments - Toxiques

CHAPITRE 16 - Tests d'amplification génique et d'hybridation moléculaire (diagnostic prénatal exclu)

- . sous-chapitre 16-01 : détection du génome bactérien
- . sous-chapitre 16-02 : détection du génome viral

CHAPITRE 17 - Diagnostic prénatal

- . sous-chapitre 17-01 : analyses de biochimie sur embryon et fœtus : diagnostic d'une maladie héréditaire du métabolisme, ou d'un syndrome malformatif
- . sous-chapitre 17-02 : actes de biologie moléculaire en vue du diagnostic des maladies génétiques
- . sous-chapitre 17-03 : diagnostic des embryofœtopathies infectieuses
- . sous-chapitre 17-04 : diagnostic d'une anomalie immunologique sur le fœtus et ses annexes
- . sous-chapitre 17-05 : diagnostics hématologiques sur le fœtus et ses annexes
- . sous-chapitre 17-06 : analyses de biochimie portant sur les marqueurs sériques d'origine embryonnaire ou foetale, dans le sang maternel, de risque accru de trisomie 21 foetale
- . sous-chapitre 17-07 : actes de génétique moléculaire réalisés sur l'ADN foetal circulant dans le sang maternel

CHAPITRE 18 - Diagnostic biologique des maladies héréditaires

NABM : exemple du dosage de la vitamine D

Trop demandée car en cas d'hypovitaminose D des points en plus dans les dossiers (T2A)

Code
NABM

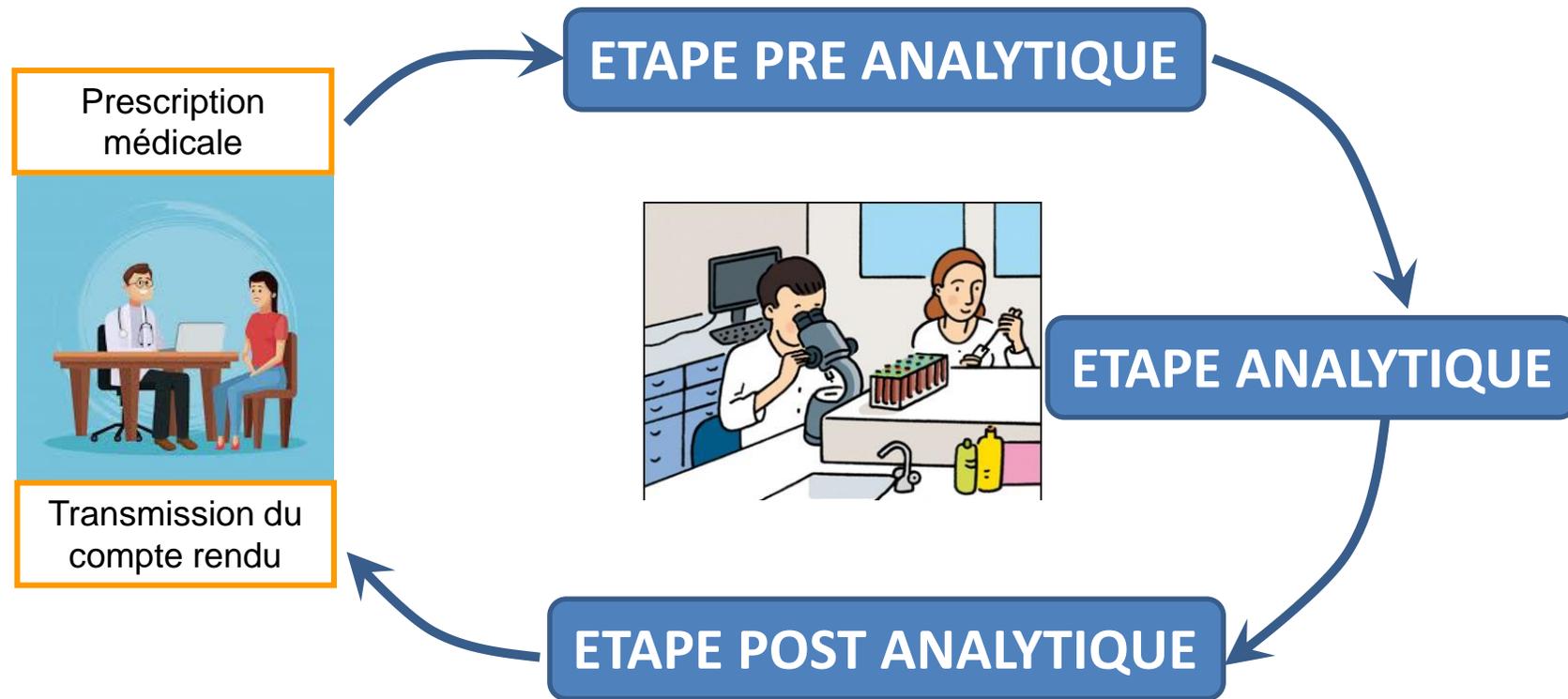
D'où l'apparition en 2014 d'un texte trop restrictif

1139 Dosage de la 25-(OH)-vitamine D (D2 + D3) B 42*0.27=11.34€

La prise en charge de cet acte est limitée aux situations suivantes :

- suspicion de rachitisme ;
- suspicion d'ostéomalacie ;
- suivi ambulatoire de l'adulte transplanté rénal au-delà de trois mois après transplantation ;
- avant et après chirurgie bariatrique ;
- évaluation et prise en charge des personnes âgées sujettes aux chutes répétées ;
- respect des résumés des caractéristiques du produit (RCP) des médicaments préconisant la réalisation de l'acte 1139.

En dehors de ces situations, il est inutile de doser la vitamine D (acte 1139), et notamment lors de l'instauration ou du suivi d'une supplémentation par la vitamine D.

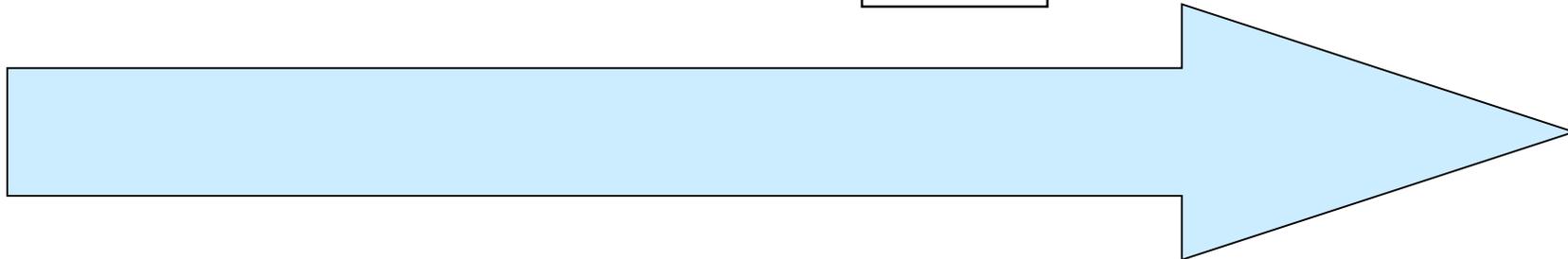


- = Une évaluation de la **compétence** de la structure et de la **qualité** des pratiques réalisées dans un laboratoire de biologie médicale. Cette évaluation est réalisée par des pairs, des biologistes médicaux à l'aide d'une norme internationale spécifique pour les laboratoires, la norme NF EN ISO 15 189
 - La norme est une procédure idéale internationale définissant le management d'un mécanisme, de la prestation de services, de la fourniture de matériel ou de l'élaboration d'un produit. ISO=International Organization for Standardization
 - La certification établit la conformité de produits, services, etc.
 - L'accréditation concerne uniquement des entreprises

Bref historique : Evolution vers l'assurance qualité en santé

1996 : certification des établissements de santé

2009 Loi HPST



Année 70
CQ

1994
GBEA

2003 : **NF EN ISO 15189** :
Accréditation volontaire

Ordonnance du 13 janvier 2010
Accréditation obligatoire

HPST : hôpital, patients, santé, territoires

CQ: contrôle de qualité

GBEA: Guide de bonne exécution des analyses

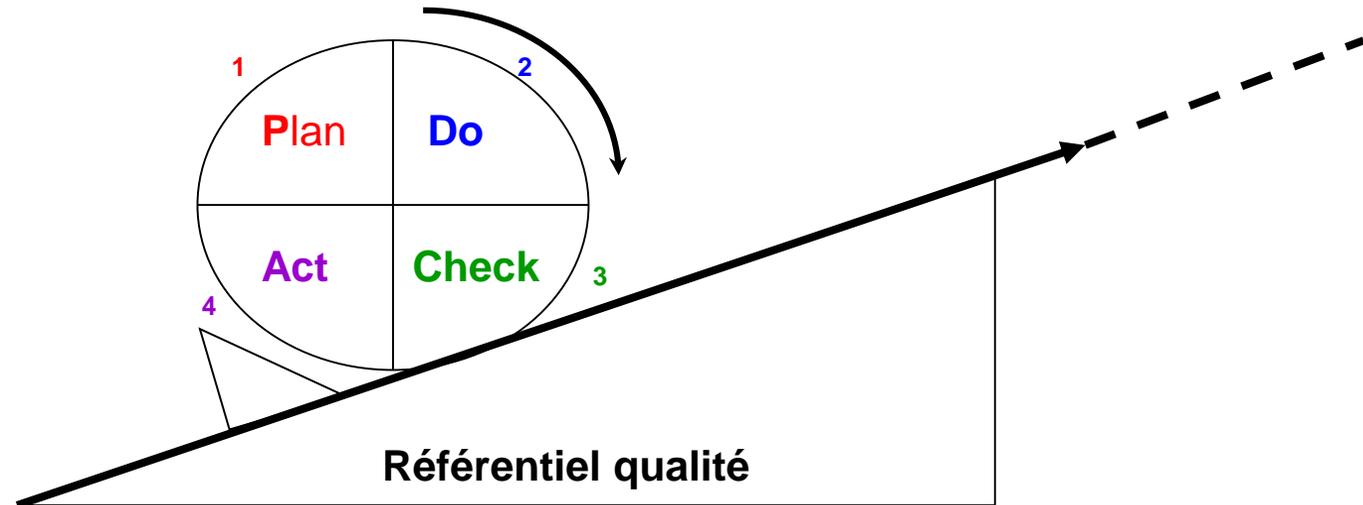
- La norme NF EN ISO 15189
- Organisme accréditeur: Le Cofrac
 - « Procédure selon laquelle un organisme faisant autorité fournit une reconnaissance formelle qu'une personne ou un organisme est compétent pour réaliser des tâches spécifiques »
 - Garantir la qualité et la sécurité
 - Améliorer l'organisation
 - Préserver et transmettre le savoir-faire
 - Respecter la réglementation



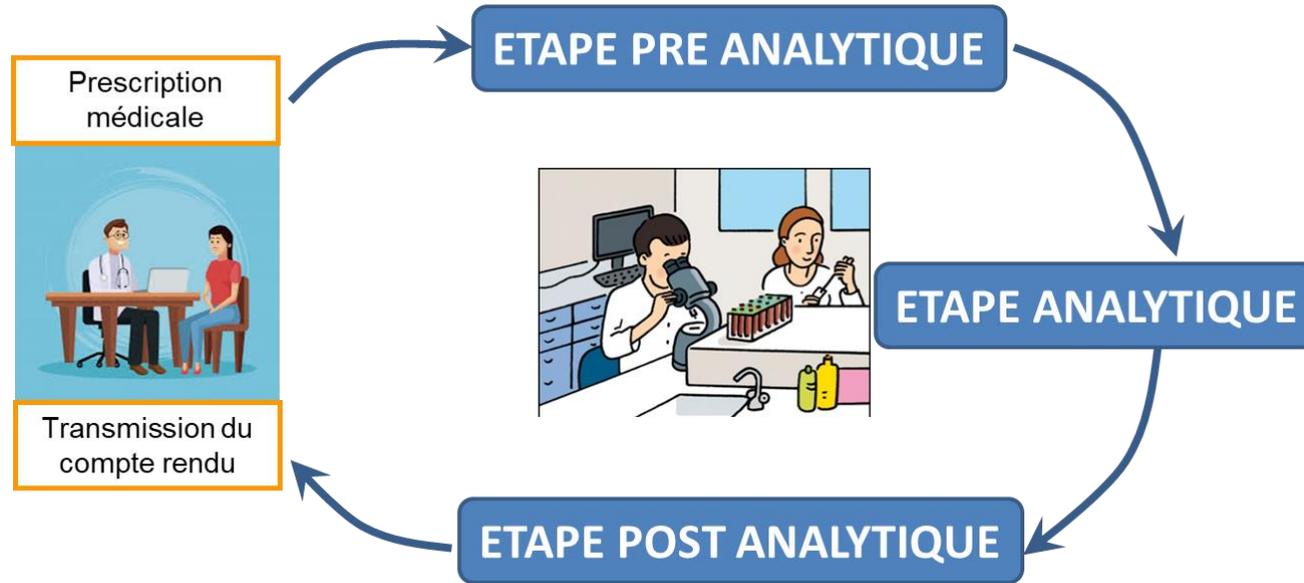
Accréditation : qualité + compétence

Le cycle d'amélioration continue

Le PDCA



- 1- Plan**  Prévoir
- 2- Do**  Faire
- 3- Check**  Vérifier
- 4- Act**  Améliorer



- Réfléchir



- Ne pas prescrire tout azimut et sans hiérarchie, suivre les recommandations
- Proba de trouver quelque chose de non pertinent si examen non adapté +++
- Angoisse, coûts, investigations complémentaires inutiles
- Rater la véritable cause ...

Respect de l'éthique

Prescription
médicale



- Dialogue patient/médecin
 - Discuter prescription: pourquoi / bénéfice attendu?
 - Poser un diagnostic
 - Confirmer une suspicion (VPP)
 - Exclure une maladie (VPN)
 - Suivre un traitement ...
 - Consentement obligatoire du patient pour certains tests: dépistage T21, génétique
 - Discuter Résultats

Dans la GLACE :
1 Tube bouchon MAUVE (EDTA)

AMMO Ammoniémie

1 Tube bouchon MAUVE (EDTA)

HBG Hémoglobine glyquée

1 Tube bouchon MAUVE (EDTA)

BNP BNP
 VD 25 OH Vitamine D (D2+D3)
 PTH Parathormone

1 Tube bouchon GRIS (Fluorure Na)

ALC Alcool éthylique
 GFLU Glycémie fluorure
 LACT Lactate plasma

1 Tube bouchon JAUNE (sec avec gel)

ACB Acides Biliaires
 ALD Aldolase
 BALP Albumine + Préalbumine
 CRPS CRP Sérique
 FERT Fer, TRF, Saturation
 FERRI Ferritine
 RSTF Récepteur Sol. Transferrine
 TRF Transferrine
 VB12 Vitamine B12
 VB9 Vitamine B9 Folates

BITD Bilirubines T&C NBIL Bilirubine Néonat.
 AU Acide urique ALB Albumine
 HPT Haptoglobine ORO Orosomucoïde

Date de Dernières Régles : JJ, MM, AA

HCG HCG (grossesse et suivi)

en pédiatrie, 2 micro tubes bouchon VERT si bilan thyroïdien

TSH TSH
 T4L T4 Libre
 T3L T3 Libre

Bilan lipidique - à jeun de 12 heures

EAL Chol, Tg, HDL, LDL
 EALB Chol, Tg, HDL, LDL, ApoB
 CHOL Cholestérol total
 TG Triglycérides
 APOA1 Apoprotéine A1
 APOB Apoprotéine B
 LPA Lipoprotéine (a)
 OUI Traitement hypolipémiant

AT AT III - Antithrombine (III)
 TT Temps de Thrombine
 PDF PDF
 CS Complexes solubles

1 Tube bouchon BLEU (Citrates)

BC Bilan de coagulation
*Non réalisable sur tube microméthode
 (TP, TCA, Fib, si nécessaire facteurs II, V, VII+X)*
 DAND Orgaran sur circuit de dialyse
 AXAD Héparine sur circuit de dialyse

**PEDIATRIE microméthode
 1tube bouchon BLEU Minicollect 1 ml**

BMM Bilan microméthode
Attention, pas de TP (TCA, Fib, Fil, FV, FVII+X)

OU
Tests isolés : 3 tests maximum
A cocher ci-dessus, même colonne.

1 Tube bouchon BLEU (Citrates)

PLAC Plaquettes sur citrate
(Ne pas centrifuger)

DIVERS	URINES	Epreuves et cycles
Maternité : Secrétions vaginales Ecouvillon	1 tube à urine 7 ml bouchon beige	Tubes bouchon GRIS (Fluorure Na)
<p><i>A acheminer rapidement au laboratoire</i></p> <p><input type="checkbox"/> PROM IGFBP1 (Rupture Prématuration des membranes foetales)</p> <p><input type="checkbox"/> FIBRO Fibronectine (Menace d'Accouchement Prématuration)</p>	<p><i>Diurèse</i></p> <p>Volume (en ml, et un chiffre par case)</p> <p><input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/> <input type="text"/></p> <p>Temps de recueil = <input type="text"/> <input type="text"/> (noter le temps en heures)</p> <p><input type="checkbox"/> Miction urinaire</p> <p><input type="checkbox"/> IOU Iono = Na, K, Cl, Créat</p> <p><input type="checkbox"/> AUU Acide urique</p> <p><input type="checkbox"/> AMMU Ammoniac</p> <p><input type="checkbox"/> CAU Calcium + Créatinine</p> <p><input type="checkbox"/> CREU Créatinine</p> <p><input type="checkbox"/> CUQ Cyto.quantitative (GB-GR)</p> <p><input type="checkbox"/> DENSU Densité urinaire</p> <p><input type="checkbox"/> GLUU Glucose</p> <p><input type="checkbox"/> GBU Leucocyturie</p> <p><input type="checkbox"/> MGU Magnésium</p> <p><input type="checkbox"/> MAU Microalbumine</p> <p><input type="checkbox"/> MYOU Myoglobine</p> <p><input type="checkbox"/> OSMU Osmolalité</p> <p><input type="checkbox"/> PHOU Phosphore + Créatinine</p> <p><input type="checkbox"/> PTU Protéines + Créatinine</p> <p><input type="checkbox"/> URU Urée</p>	<p>Grouper les tubes, indiquer les temps sur chaque tube.</p> <p><input type="checkbox"/> CGLY Cycle Glycémique</p> <p><input type="checkbox"/> HPGO Hyperglycémie provoquée</p> <p><input type="checkbox"/> HYPOG Hypoglycémie sous insuline</p>
Liquide divers - 1 tube conique		1 Tube bouchon JAUNE (sec avec gel)
<p>LCR : utiliser la fiche spécifique</p> <p><input type="checkbox"/> ascite <input type="checkbox"/> dialyse</p> <p><input type="checkbox"/> gastrique <input type="checkbox"/> péritonéal</p> <p><input type="checkbox"/> péricardique <input type="checkbox"/> pleural</p> <p><input type="checkbox"/> Autres : _____</p> <p><input type="checkbox"/> IODI Iono = Na, K, Cl, Pt, Urée, Créa</p> <p><input type="checkbox"/> ALBDI Albumine</p> <p><input type="checkbox"/> AMYDI Amylase</p> <p><input type="checkbox"/> GLUDI Glucose</p> <p><input type="checkbox"/> LACDI Lactate</p> <p><input type="checkbox"/> LDHDI LDH</p> <p><input type="checkbox"/> PTDI Protéines</p> <p><input type="checkbox"/> PTLDP Protéines LDP</p>		<p><input type="checkbox"/> PMA Estradiol + LH FIV</p> <p><input type="checkbox"/> EFIV Estradiol FIV</p> <p><input type="checkbox"/> LHFIV LH FIV</p> <p><input type="checkbox"/> PGFIV Progestérone FIV</p>
		1 Tube bouchon VERT (Héparinate de Li)
		<p><i>test sous TRH, indiquer le nombre de tubes noter les temps correspondants</i></p> <p><input type="checkbox"/> TSHT <input type="text"/> Nombre de tubes</p> <p>t0 t1 t2</p>

ETAPE PRE ANALYTIQUE

Respect de l'éthique

Prescription
médicale



H

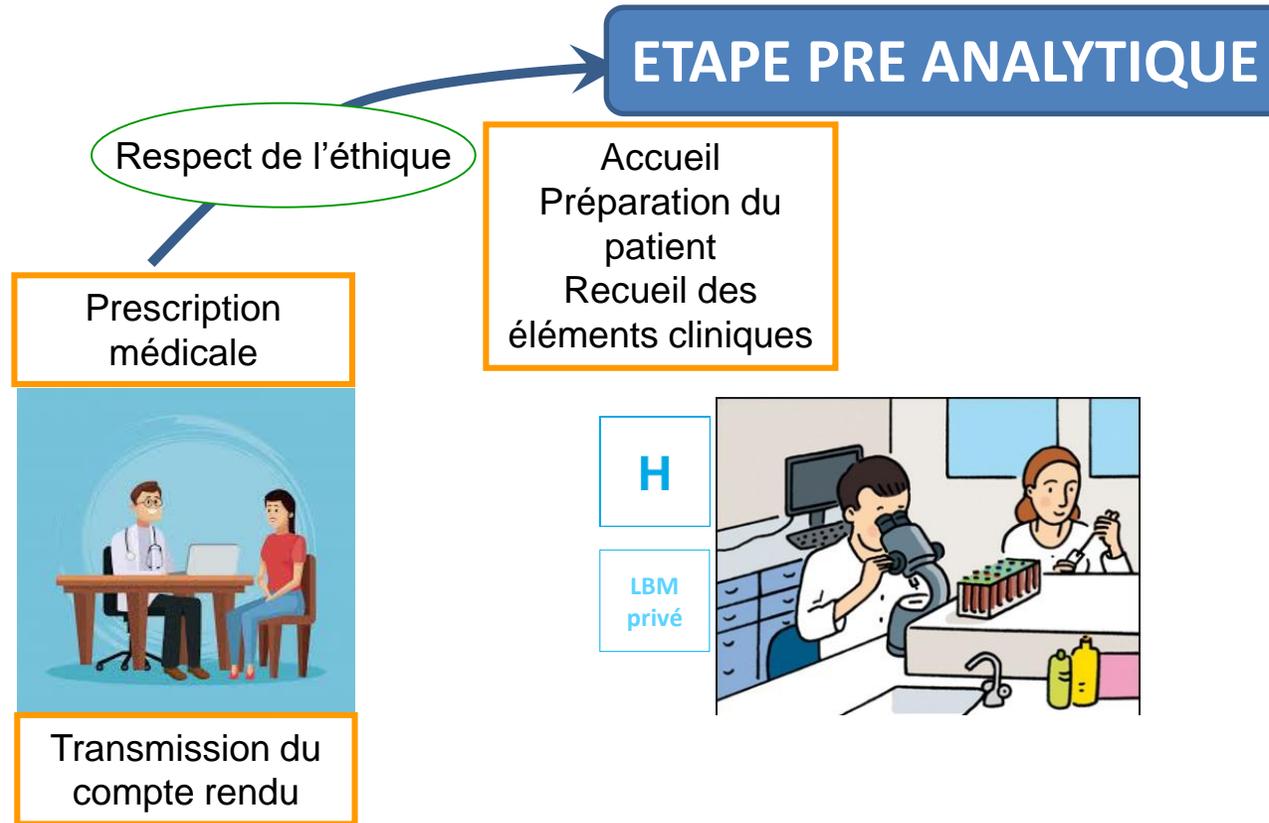
LBM
privé



- Phase Pré-Analytique = enjeux médico-économique
- Erreur Pré-Ana = 68% des erreurs d'analyse de biologie médicale
 - Retard et/ou défaut de prise en charge
 - ↑↑ Coût direct et indirect

Rôle de la communication, de la formation +++





- **Le prélèvement conditionne la qualité des résultats**

- S'assurer de l'accueil et du confort optimal du patient au repos , sans stress
- Suivre scrupuleusement les bonnes pratiques de prélèvement
- S'assurer de la bonne identification des prélèvements
- Respecter les règles d'asepsie et de sécurité
- Recueil des éléments cliniques pertinents
- Préparation, transport et conservation de l'échantillon jusqu'au site d'analyse





les éléments pré-analytique influençant l'interprétation

1. Facteurs liés au patient

se manifestant *in vivo*

a. Non modifiables

Sexe, âge, origine ethnique, Grossesse

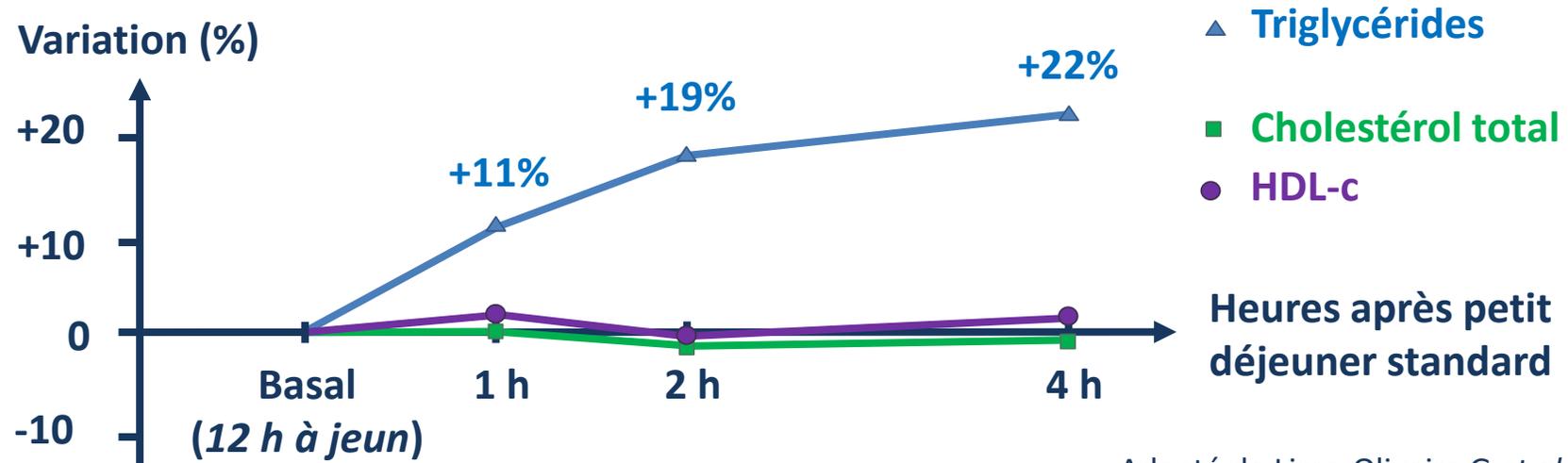
b. Modifiables

- Biorythme (circadien)
- Mode de vie (activité physique, stress, travail de nuit...)
- Alimentation, poids
- Produit stimulant, Tabac, Alcool
- Préparation du patient : état de jeûn, position du patient lors de la prise de sang
- Pathologie et traitement



ETAT DE JEÛNE ?

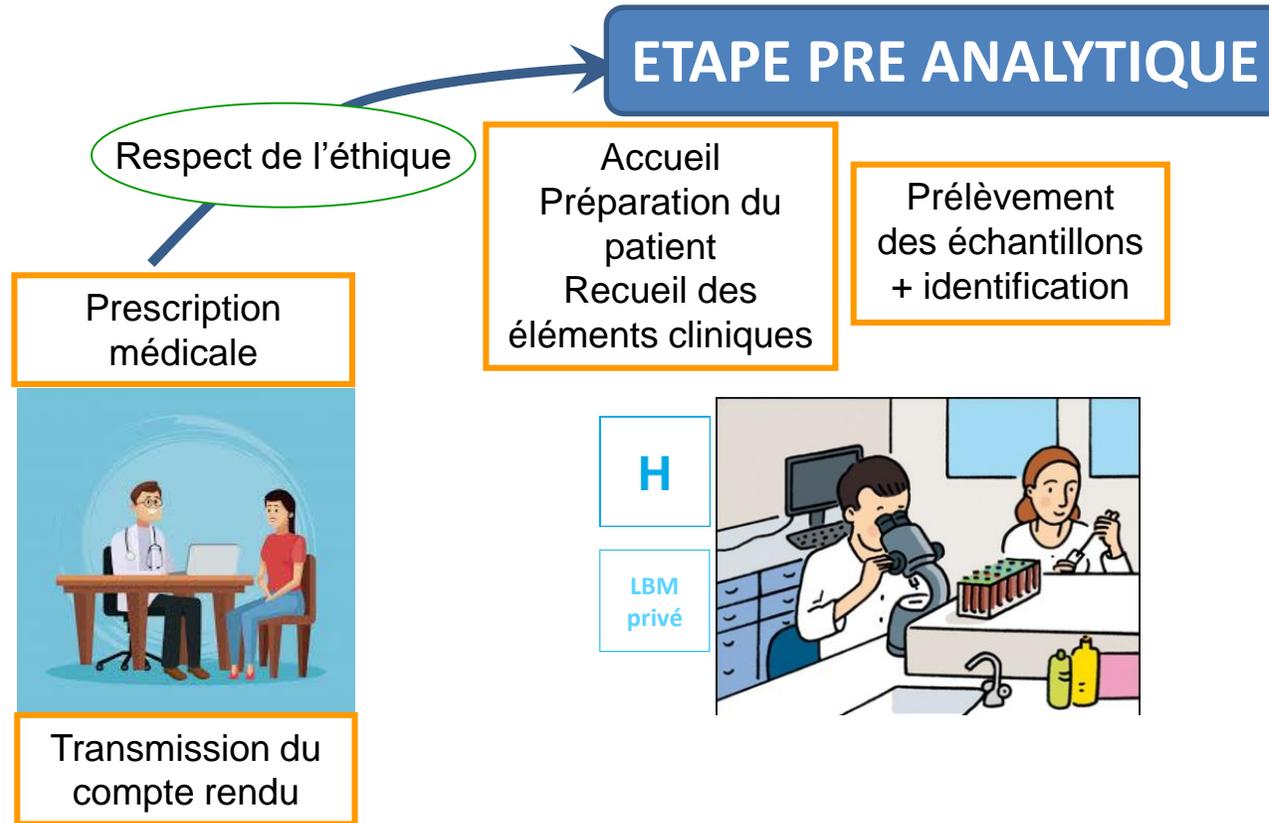
Ex : Exploration Anomalie Lipidique (EAL)



Adapté de Lima-Oliveira G *et al.*,
Ann Lab Med 2012

RECOMMANDATIONS

EAL : 12H DE JEÛNE



2. Facteurs **NON** liés au patient

se manifestant *in vitro*

a. Préparation / Identification

Renseignements cliniques, Etiquetage échantillons...

b. Prélèvement

Site de ponction, Ordre et Type de tubes...

c. Conservation et Transport

T° de conservation et de transport
Délai d'acheminement, Abri de la lumière

d. Préparation des échantillons

Temps de coagulation, Centrifugation...

Certificat de capacité à effectuer des prélèvements sanguins (CCEPS)

Nature du prélèvement biologique

Sanguin:

- **Veineux**
- **Artériels***
- **Capillaires**

Urinaire

Liquide de ponction:

- LCR*
- Liquide pleural*
- Liquide articulaire* ...

Urétral*, Vaginal*, de Phanères* ...

Type de détermination demandée

Biochimique

Hématologique

Bactériologique

Parasitologique

Mycologique

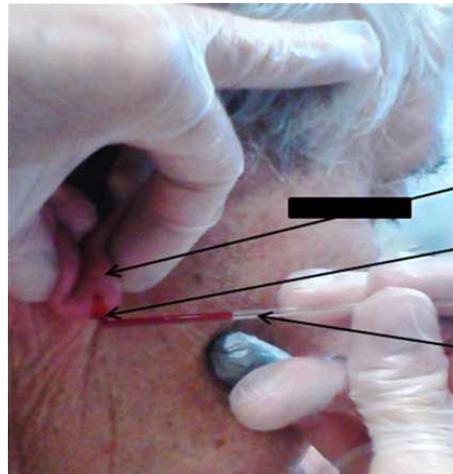
Cas particulier : Prélèvements par ponction veineuse sur les enfants de moins de cinq ans réservés aux Directeurs et Directeurs adjoints de laboratoire. (privé)

** Prélèvements réalisés par un médecin / (infirmièr(e))*

Le prélèvement veineux est le prélèvement sanguin de choix



Le prélèvement de sang de type **capillaire** est à l'origine de résultats non reproductibles
C'est un prélèvement réservé à des cas bien particuliers



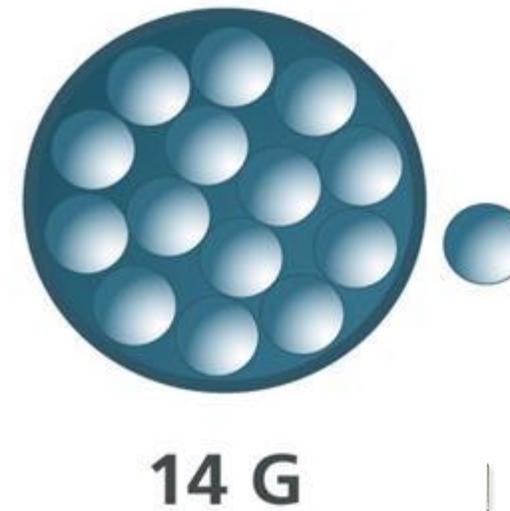
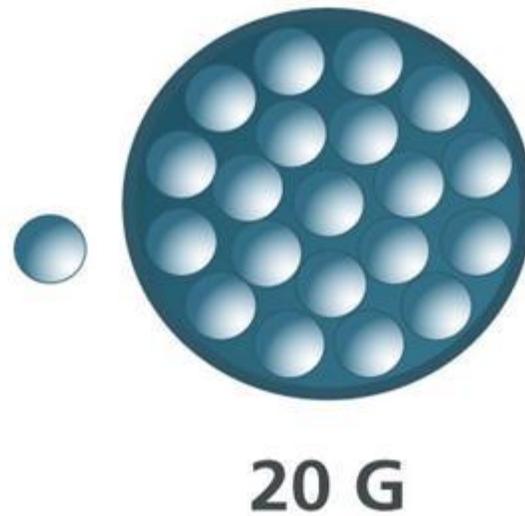
Lobe de l'oreille

Gouttelette de sang

Tube capillaire

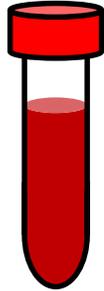
Les aiguilles

- **Diamètre** : exprimé en gauge (G) qui varie en fonction inverse du diamètre interne
- **Nb de Gauge** : nb d'aiguilles que l'on peut mettre dans un gabarit en forme de cylindre d'un diamètre de 1 pouce (1 pouce = 2,54 cm)



Le choix du tube

SÉRUM



Tube Sec

Liquide sanguin **POST-COAGULATION**
SANS facteurs de coagulation
(fibrinogène....)

Coagulation puis Centrifugation



Sérum

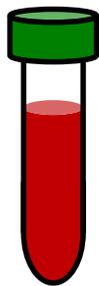
Globules Blancs, Plaquettes

Globules Rouges

Règle des 3S: **S**érum / **S**ec / **S**ans facteur de coagulation



PLASMA



Tube Hépariné

Liquide sanguin **SANS COAGULATION**
AVEC facteurs de coagulation
(fibrinogène....)

Centrifugation



PLASMA

Choix de la matrice

Choix du tube =>
une matrice avec
Additif

Couleur du bouchon du tube	Additifs	Utilisation: exemples
 Vert	Héparinate de Lithium	Ionogramme, bilan hépatique, lipidique, enz. cardiaques
 Violet	EDTA K3 ou K2	Hb glyquée, Numération sanguine, Bio. Mol.
 Orange-Jaune (SST)	Tube sec avec séparateur	Hormones, Sérologies et autoanticorps
 Rouge	silice	Protéines et dosage des Ig
 Gris	FX/FE: Antiglycolytique = Fluorure de sodium Anticoagulant = Oxalate de potassium/ Na ₂ EDTA <hr/> LH, L Iodo Antiglycolytique = Iodoacétate de Lithium Anticoagulant = Héparinate de Lithium	Glucose lactate
 Bleu ou noir	Citrate	Hémostase et groupage

Action des additifs

Additif	Action ANTICOAGULANTE
Héparinate de Lithium/Sodium	Potentialise l'antithrombine
EDTA di/tripotassique	Chélateur irréversible cation divalent (Ca ²⁺)
Citrate trisodique	Chélateur réversible cation divalent (Ca ²⁺)
Oxalate de potassium	Neutralisation Ca ²⁺ par précipitation sous forme de sels (Oxalate de Calcium)

Additif	Action ANTIGLYCOLYTIQUE
Iodoacétate de Lithium	⊖ Glycéraldéhyde-3-P déshydrogénase
Fluorure de sodium	⊖ Enolase (F ⁻ complexe Mg ²⁺)

GLUCOSE



Glycéraldéhyde-3-P



Iodoacétate

1,3-diPGlycérate



2-PGlycérate



Fluorure

PEnolPyruvate



Pyruvate

LACTATE



Utilité : Glycémie différée, Lactate

Le processus de prélèvement

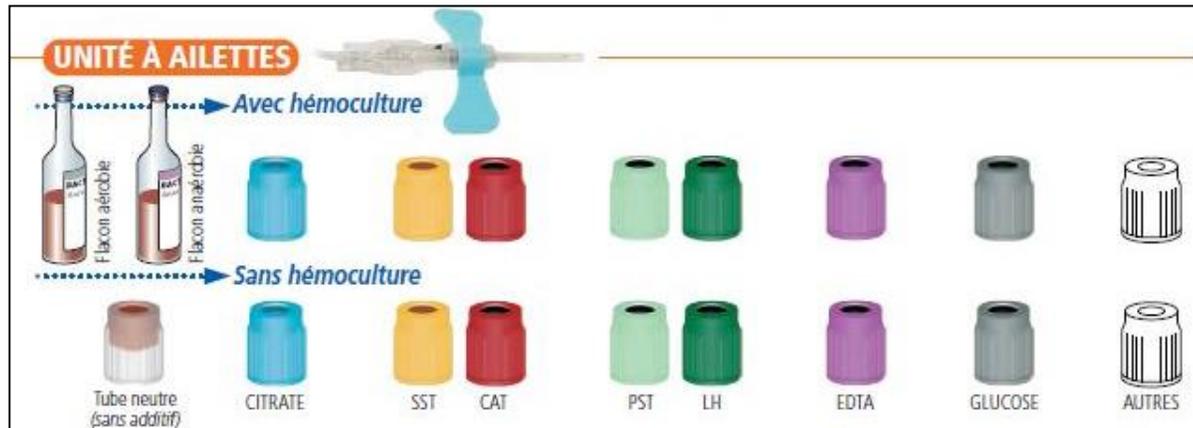


Respecter l'ordre de prélèvement des tubes



Eviter contamination des additifs entre les tubes

Tube bleu citrate en 1^{er} : Citrate liquide => bien remplir !



Utilisée si prélèvement difficile (enfant, veine fragile)
Risque : début coagulation => perturbation bilan coag

Tubulure emplie d'air
Risque : mauvais remplissage tube bleu

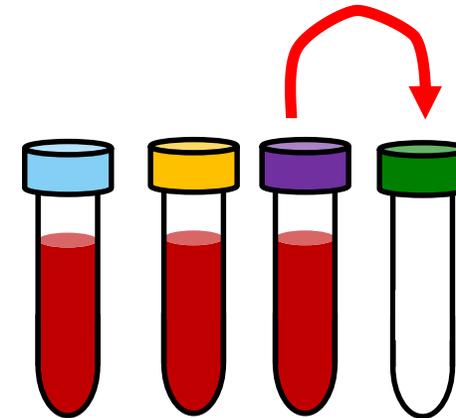


Purge (air + sang) avant tube bleu
=> Hémoc ou Tube neutre en 1^{er}

Erreur de tube

Homme de 76 ans hospitalisé pour cancer colorectal.
Bilan sanguin de routine à 07H00. Plasma non hémolysé.

Analyte	Unité	Résultats
Sodium	mmol/L	138
Potassium	mmol/L	17,2
Urée	mmol/L	9,0
Créatinine	μmol/L	119
Protéine	g/L	69



« Arrêt écoulement
=> Remplissage tube vert
avec tube violet »

**Pseudohyperkaliémie due
contamination par EDTAK3 ?**

Vérification : Ca, Mg indétectable
car chélation cation divalent par EDTA
➔ Tel : faire nouveau prélèvement (tube vert)

Erreur de prélèvement ?

Analyses Plasma	A VALIDER ?	antécédent
	17/06/17 07:00	16/06/17 23:30
Na	112	138
K	2,5	3,5
Urée	2,1	3,5
Créatinine	45	65
Glucose	48	3,8
Protéine	51	70
Calcium	1,68	2,32

↑ Glycémie ++

↓ Na, K, Urée/Créat,
Prot, Calcium



Variation cohérente ?

Dilution des paramètres
excepté glucose

Suspicion erreur prélèvement :
Côté Perfusion G5

Ne pas valider / Annuler bilan
=> Nouveau prélèvement

Erreur Stockage / Transport ?

Analyses Plasma	A VALIDER ?	antécédent
	19/06/17 07:00	15/06/17 23:30
Na	140	138
K	5,7	3,5
Urée	3,8	3,5
Créatinine	68	65
Glucose	< 0,1	4,5
Protéine	69	70

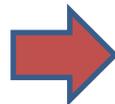
↑ K⁺ due HÉMOLYSE ++
(mesurée par indice d'Hémolyse)

↓ GLYCÉMIE ++

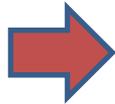


Variation cohérente ?

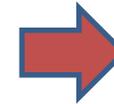
Fragilisation GR => ↑ K⁺
Glycolyse *in vitro* => Glc aberrante



Délai transport non conforme ?

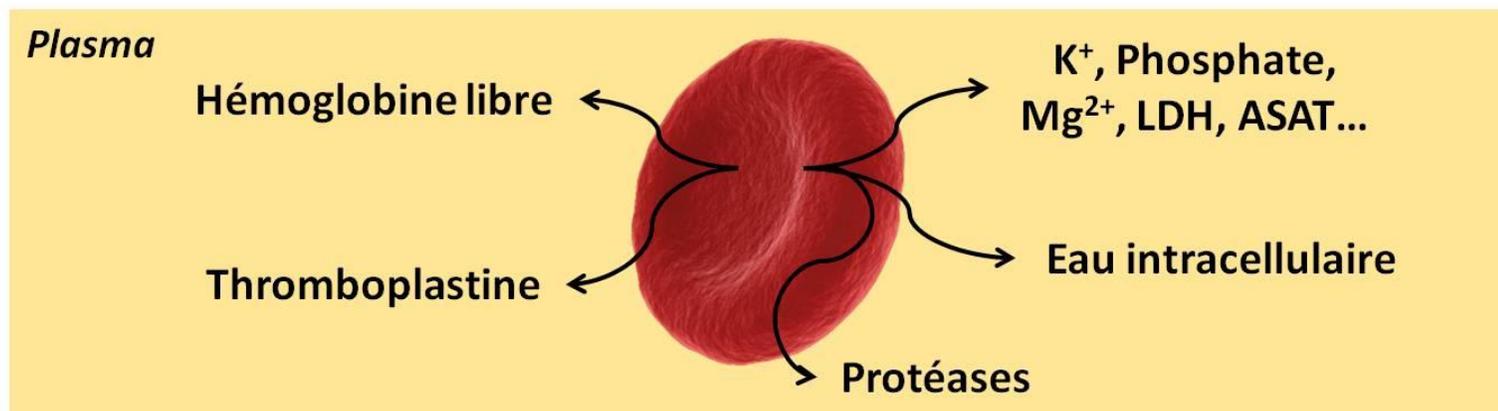


Vérification des dates :
Prélèvement : Vendredi 16 Juin
Réception : Lundi 19 Juin



- Annuler bilan
- Demande nouveau bilan
- Tube vert (HLi) < 2 h

L'Hémolyse : étiologies



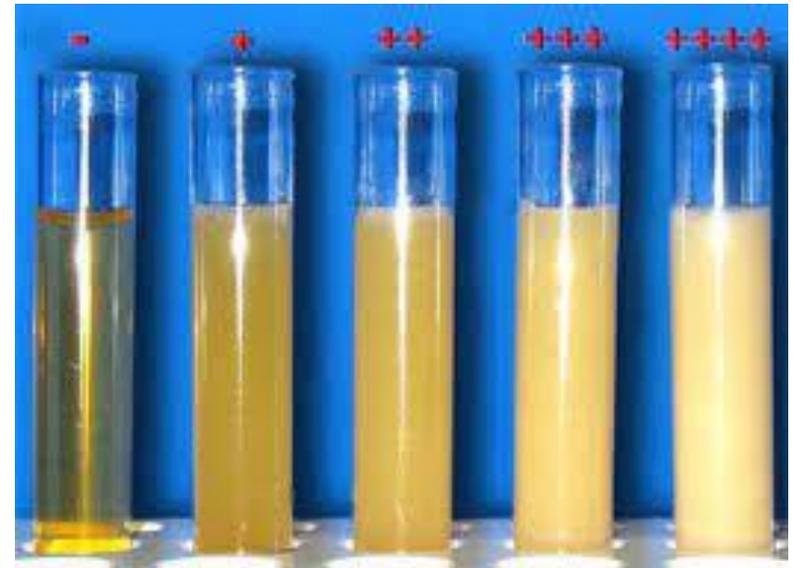
IN VIVO = Hémolyse intravasculaire

IN VITRO = Artéfact
2-3% échantillons (*Lippi et al. 2011*)

Nombreuses Causes pré-analytiques

Principales causes d'Hémolyse *in vitro*

Patient	Veines fragiles, hématomes, trauma...
Prélèvement	Pose du garrot trop longue, Aiguille trop petite, prélèvement traumatique, Coagulation dans le système de prélèvement Homogénéisation trop brusque
Transport	Durée d'acheminement trop longue, Accélération trop forte (pneumatique)
Centrifugation	Centrifugation trop rapide, trop longue, centrifugation multiple
Conservation	Durée trop longue, température trop basse, Congélation/décongélation de sang total



Impact de l'Hémolyse *in vitro*

Interférences
« pré-analytiques »

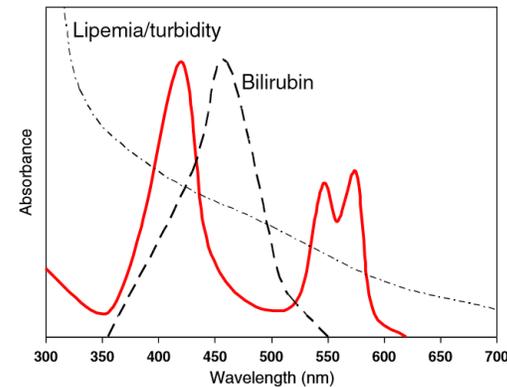
Libération du contenu
intracellulaire



↑ LDH > ↑ ASAT
> ↑ K+ > ↑ P > ↑ Mg...

Interférence Chimique lors du dosage

Interférences sur technique
spectrophotométrique avec lecture
au pic Hb (415, 540, 570nm)



↓ ou ↑ selon les
paramètres et le
niveau de
concentration

Erreur Stockage / Transport ?

Analyses Plasma EDTA	A VALIDER ?	antécédent
	17/06/17 07:00	16/06/17 23:30
Ammoniémie	112	42

↑ NH4⁺ ++

➔ Variation cohérente ?

➔ 1- Transport non conforme ?
2- Cohérence clinico-biologique ?

↑ NH4⁺ in vitro :

- Dégradation de composés azotés (Ex : γGT plasmatique sur glutamine)
- Lors de la coagulation

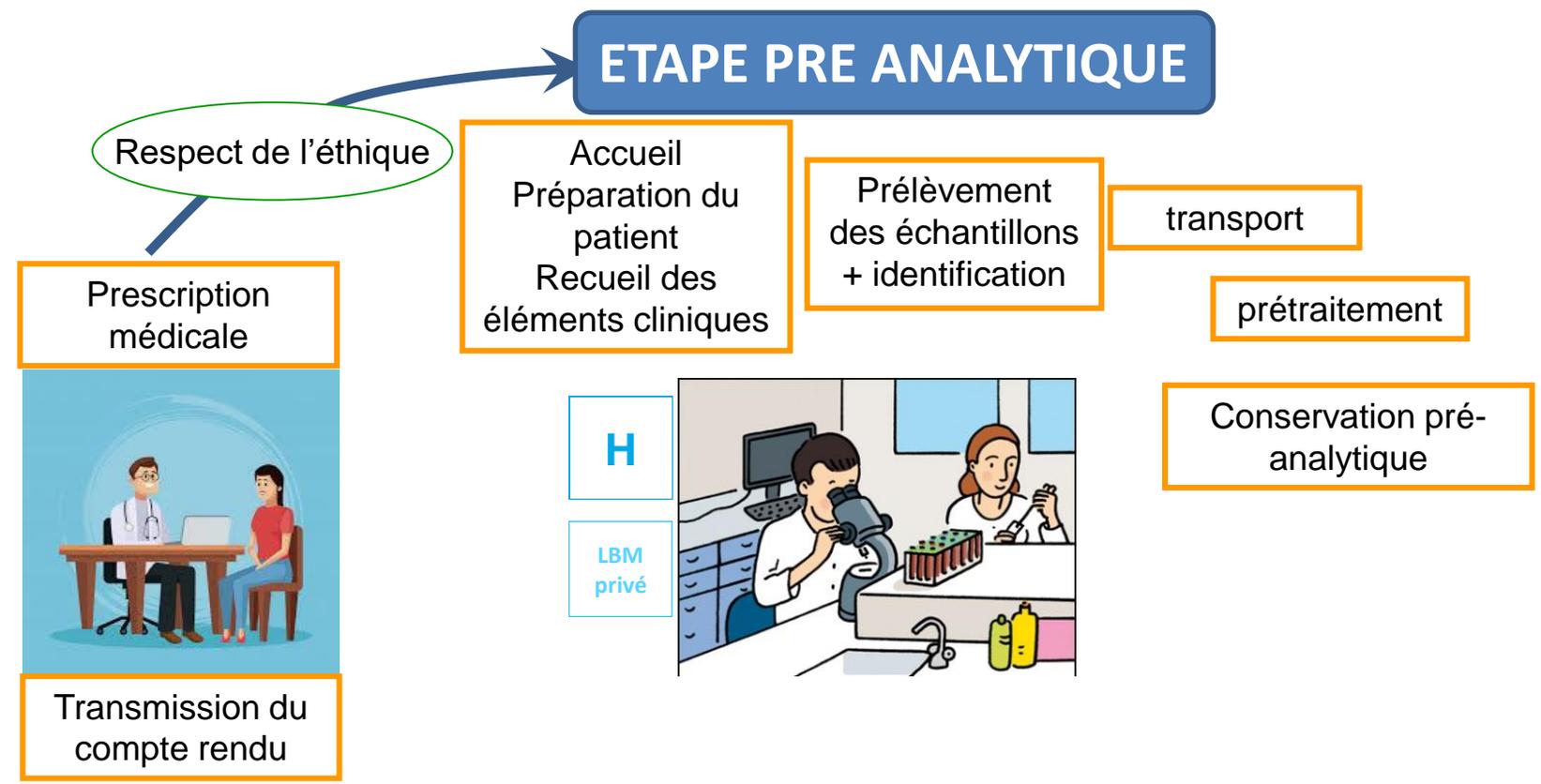
Recommandation

- Transport : + 4°C
- Tube EDTA

Vérification : Non acheminé à + 4°C

➔

- Annuler bilan
- Demande nouveau bilan



Le prélèvement est la première étape de l'analyse et il conditionne la qualité des résultats

Maîtriser le pré-analytique

1. Patient

2. Identification

3. Prélèvement

4. Transport

5. Préparation

**Eviter les pièges
(70% des erreurs de rendu de résultats)**

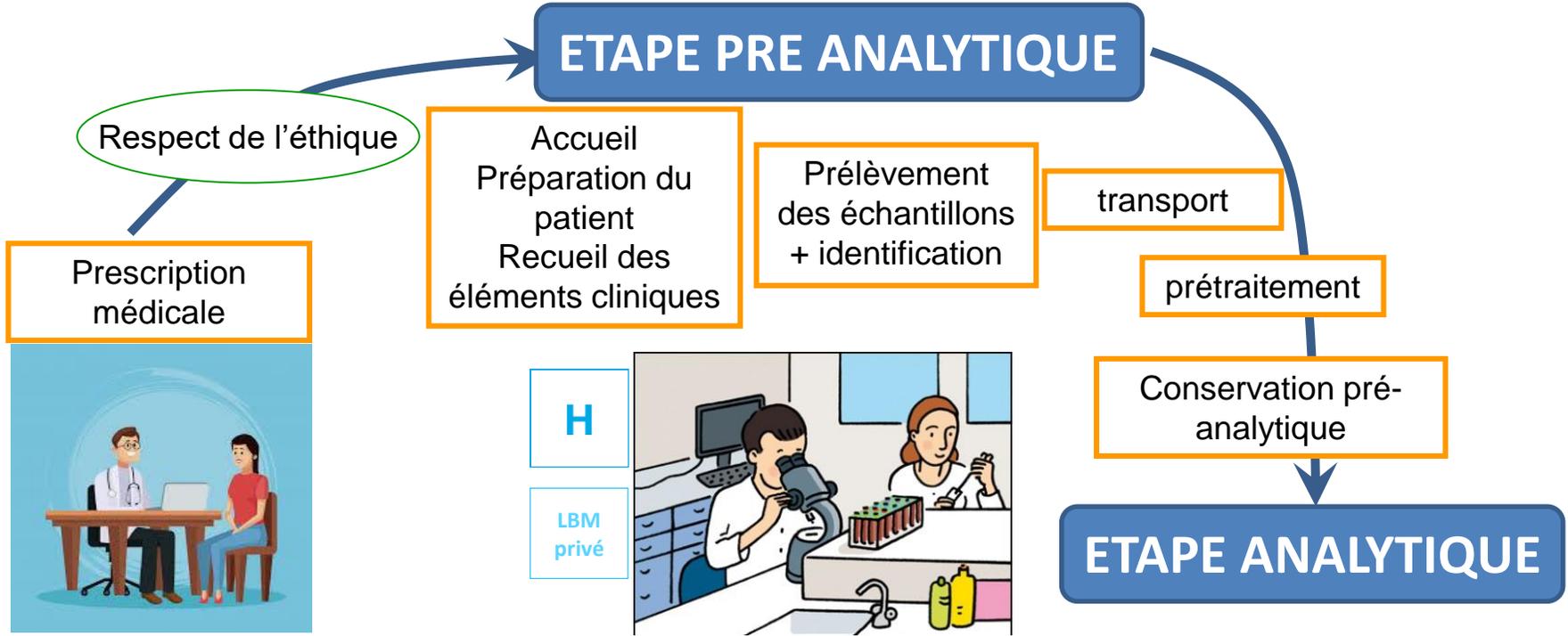
Grossesse, Jeun, Tabac, Traitement.....

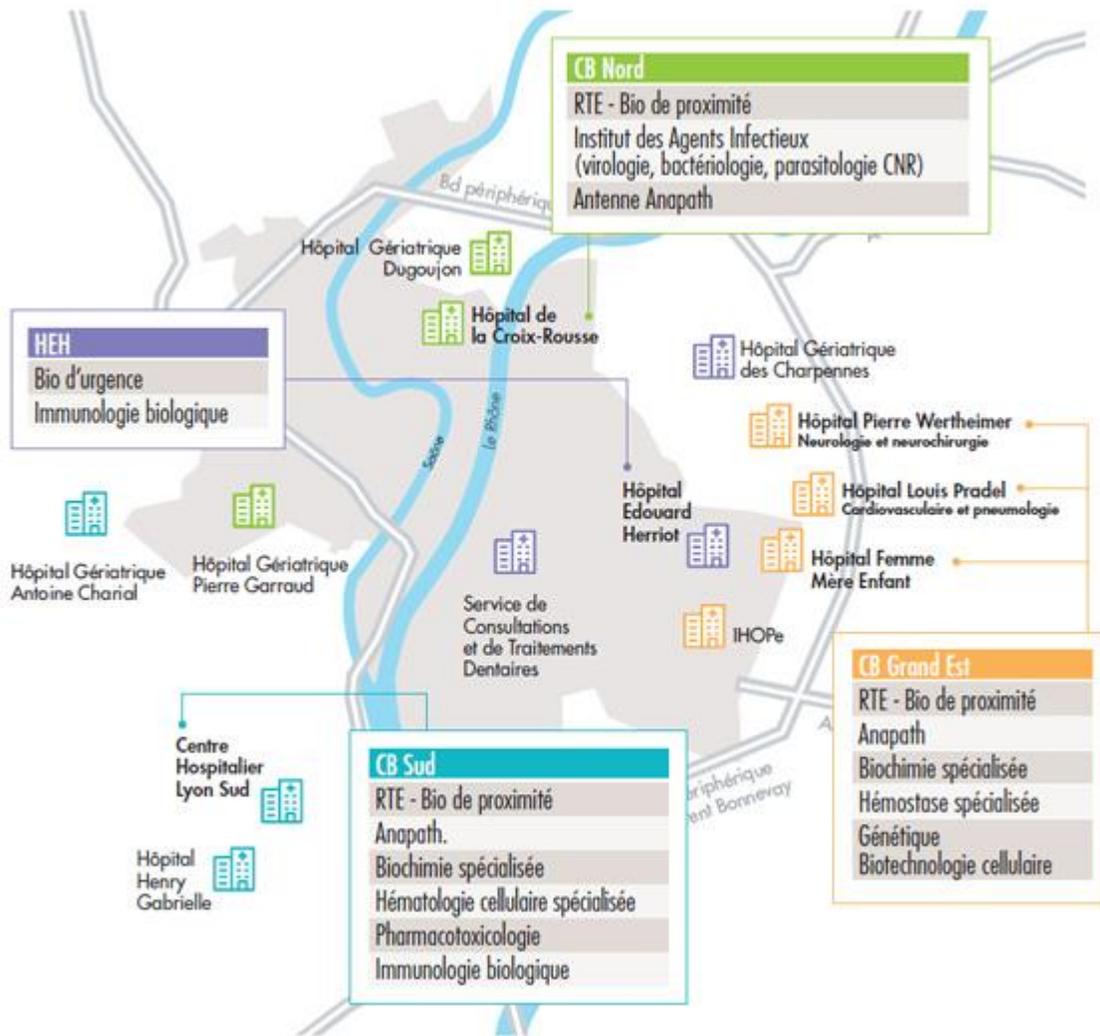
**Règle des 3B :
Bon patient, Bonne étiquette, Bon tube**

**Site de ponction, Garrot,
Type, ordre, remplissage des tubes**

**Délai, température
et mode (pneumatique, pédestre)**

Vitesse, température de centrifugation



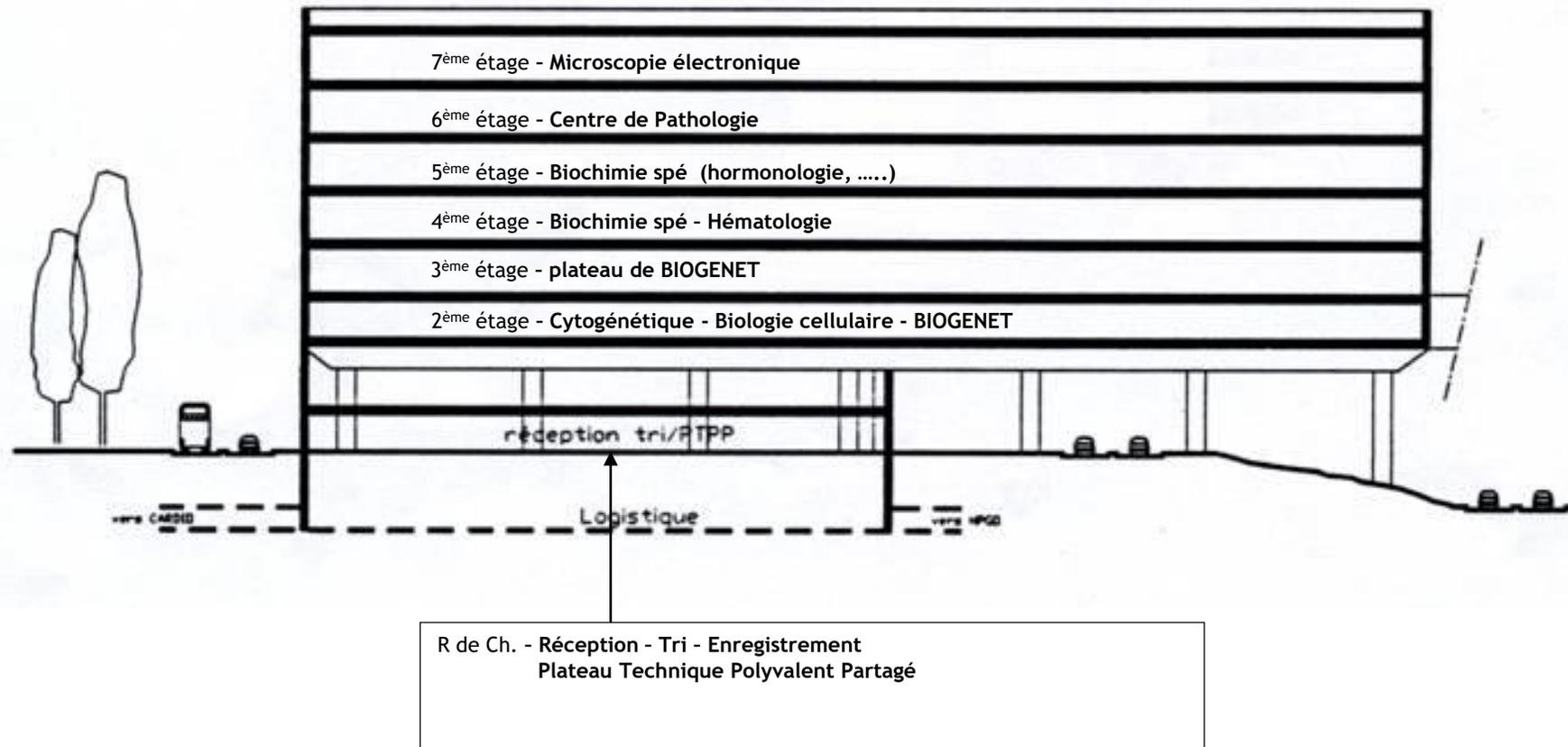


Le Centre de Biologie et Pathologie Est



Analyses de 5 hôpitaux GHE GHC – 2700 lits + établissements partenaires: CLB IHOP Vinatier Saint Vincent de Paul
 Bâtiment indépendant de 7 étages

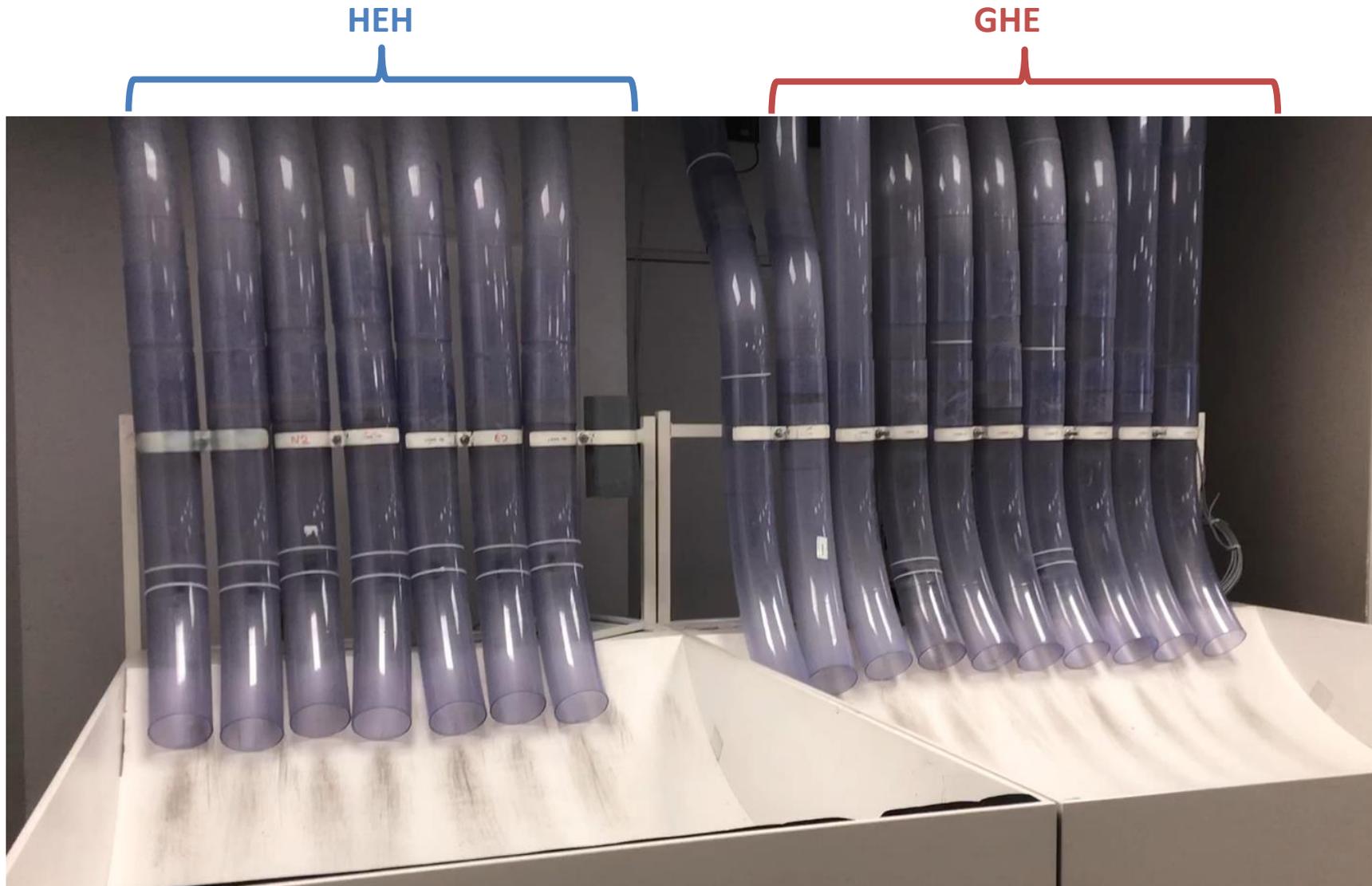
Structure du CBPE

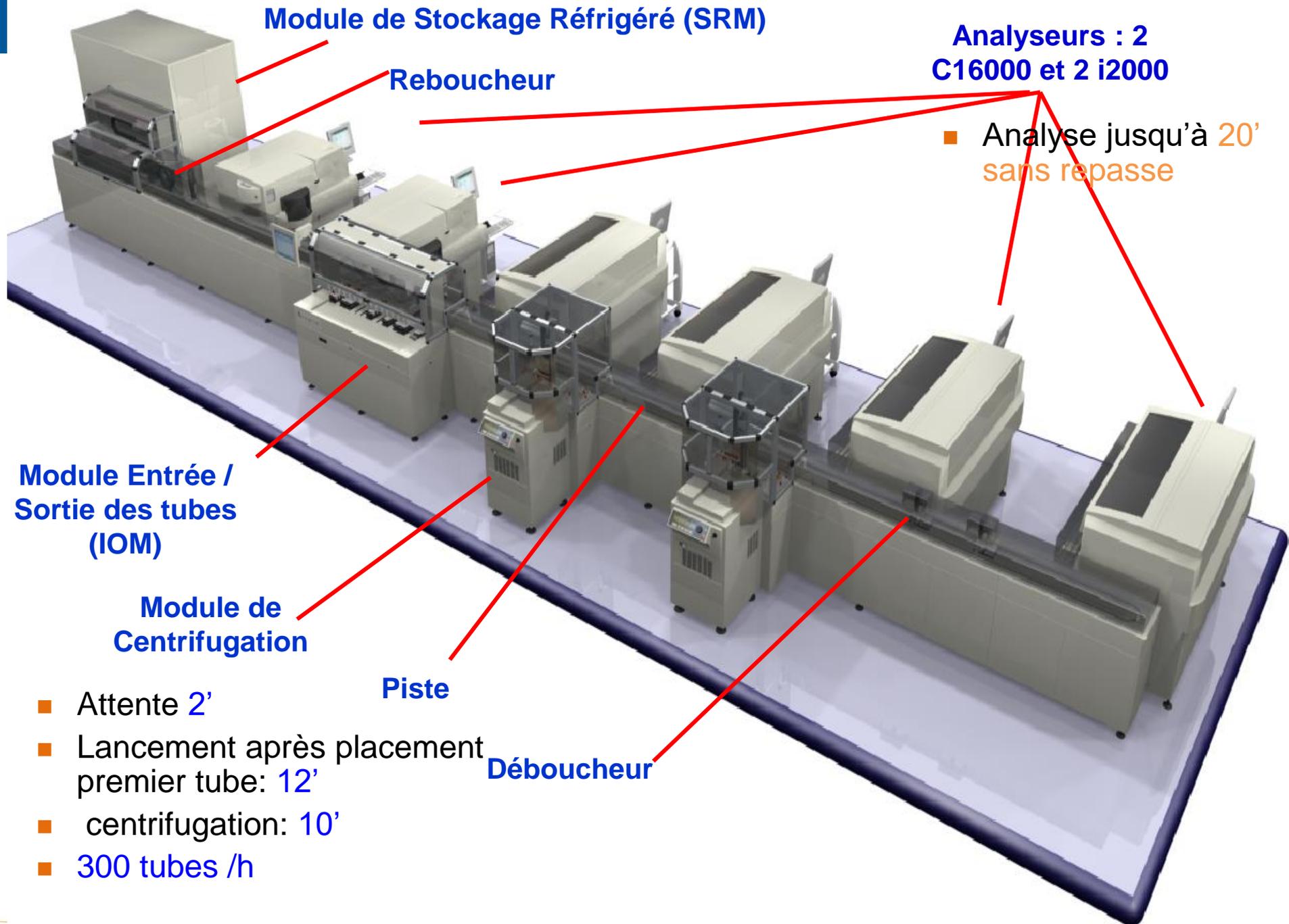


Activité 2021 sur le plateau technique :

- > 6 320 000 tests /a
- > 48 millions de B/BHN /a
- 2000 - 3000 tubes /j
- 300 - 350 GDS /j
- 15 - 20 LCR /j
- 30 % urgent
- ~ 100 examens

RTE : Réception Tri Enregistrement





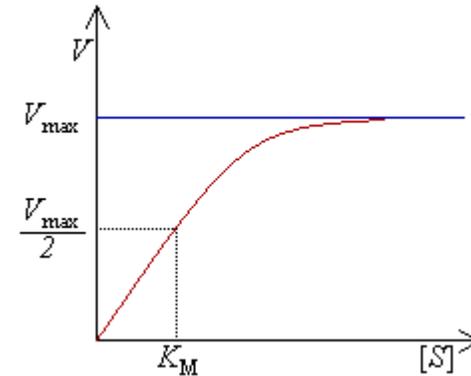
Analytique

I/ Qu'est ce qu'un EBM?
II/ La prescription
III/ L'EBM
IV) La biologie délocalisée

1. Etape pré-analytique
2. Etape analytique
3. Etape post-analytique

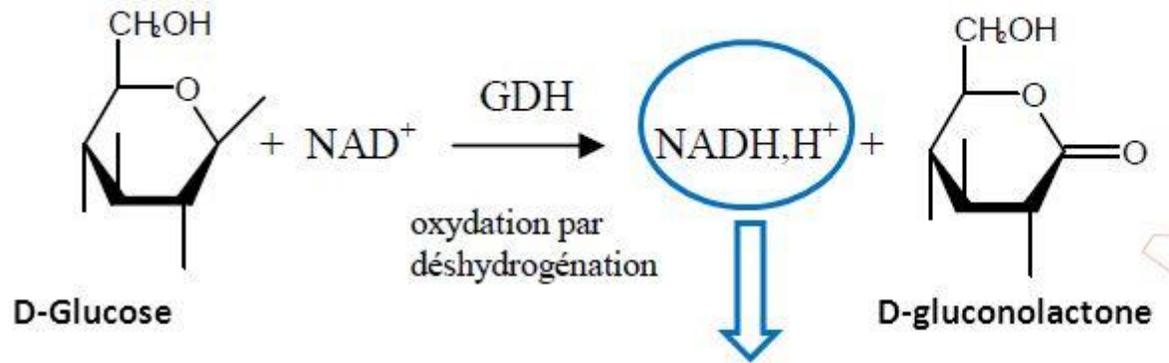


- Réactions **chimiques**: réactif spécifique du composé à mesurer (ex: bilirubine)
- Réactions **enzymatiques**: utilisation spécificité de l'enzyme vis-à-vis du substrat **Ex**: dosage du glucose

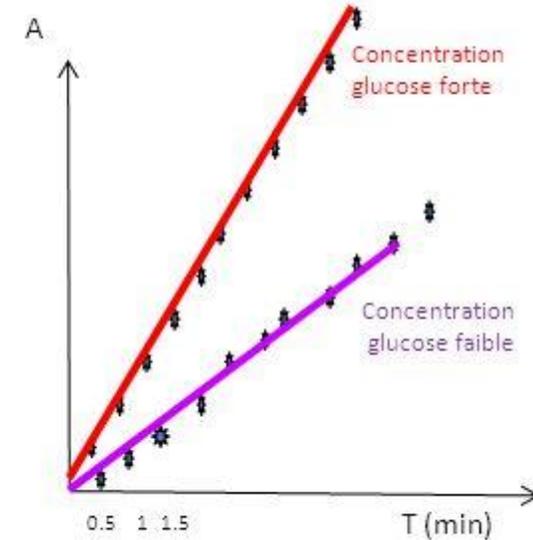


- **Ex : une technique de dosage de glucose**

GDH : glucose dehydrogenase

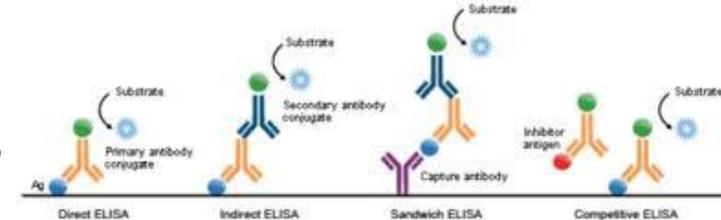
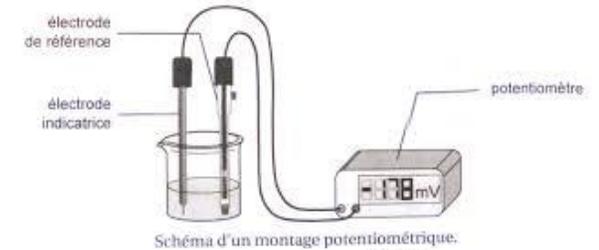


Mesure absorbance à 340 nm
→ augmentation au cours de la réaction

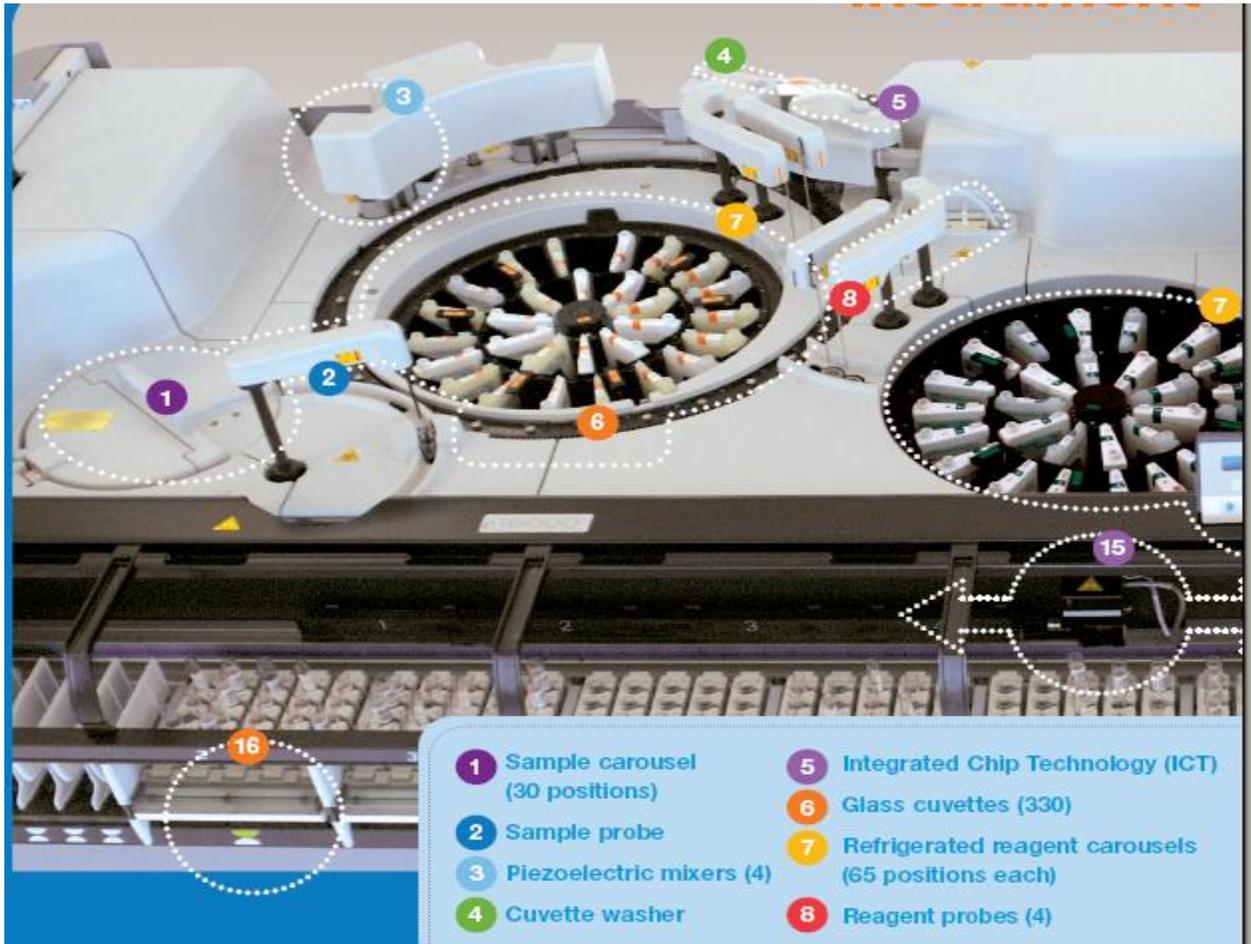




- Réactions **chimiques**: réactif spécifique du composé à mesurer (ex: bilirubine)
- Réactions **enzymatiques**: utilisation spécificité de l'enzyme vis-à-vis du substrat **Ex**: dosage du glucose
- Réactions **électrométriques** +++ pour mesure des ions
- Réactions **immunologiques**: exploitation de la spécificité de liaison d'un anticorps avec un antigène: +++ substance en très petites concentrations (hormones) polypeptide
- Techniques séparatives: chromatographie spectrométrie de masse ; WesternBlot...



Exemple d'automate de biochimie



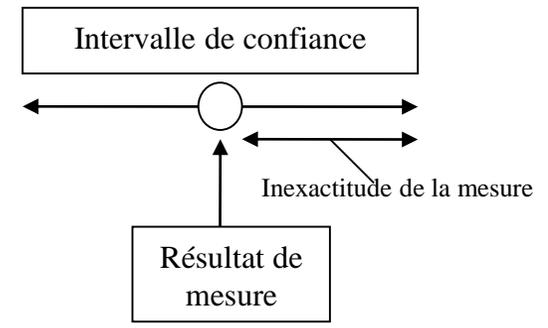
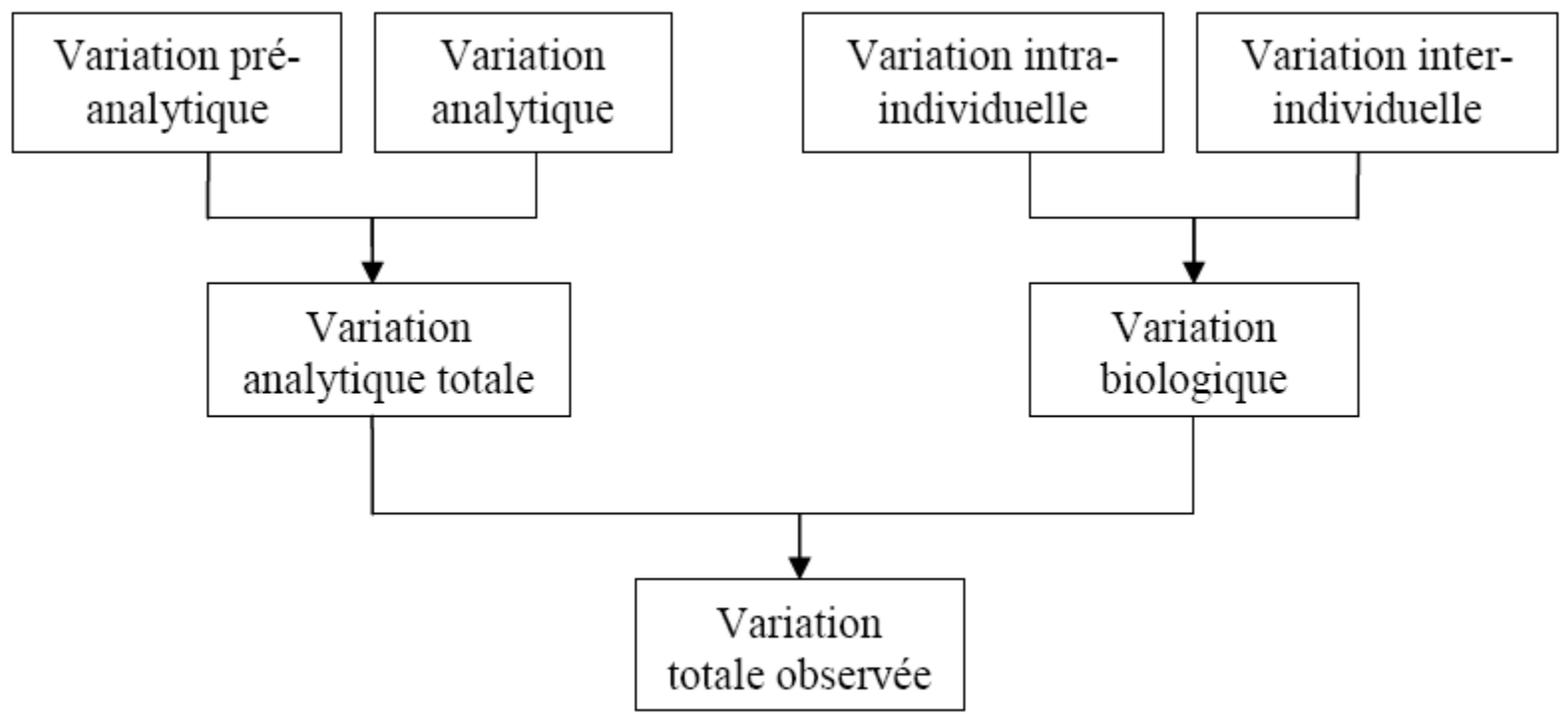
Incubation à 37°C

Analyse photométrique
ou potentiométrique

- La biologie n'est pas une science exacte
- Tout résultat, fruit d'une mesure expérimentale est entaché d'une erreur .
- A partir de quelle limite cette erreur est qualifié d'inacceptable ?
- Quels sont les facteurs à prendre en compte dans cette estimation ?



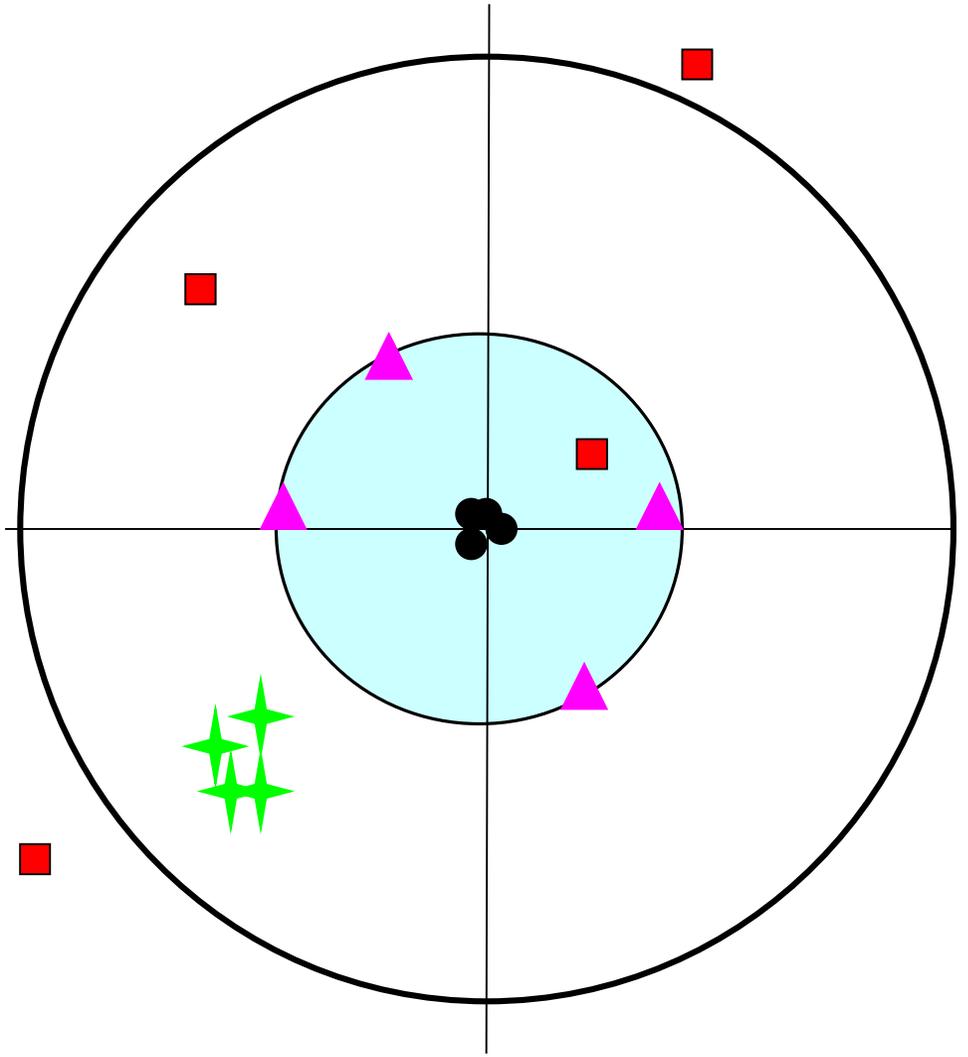
Sources de variations impactant le résultat



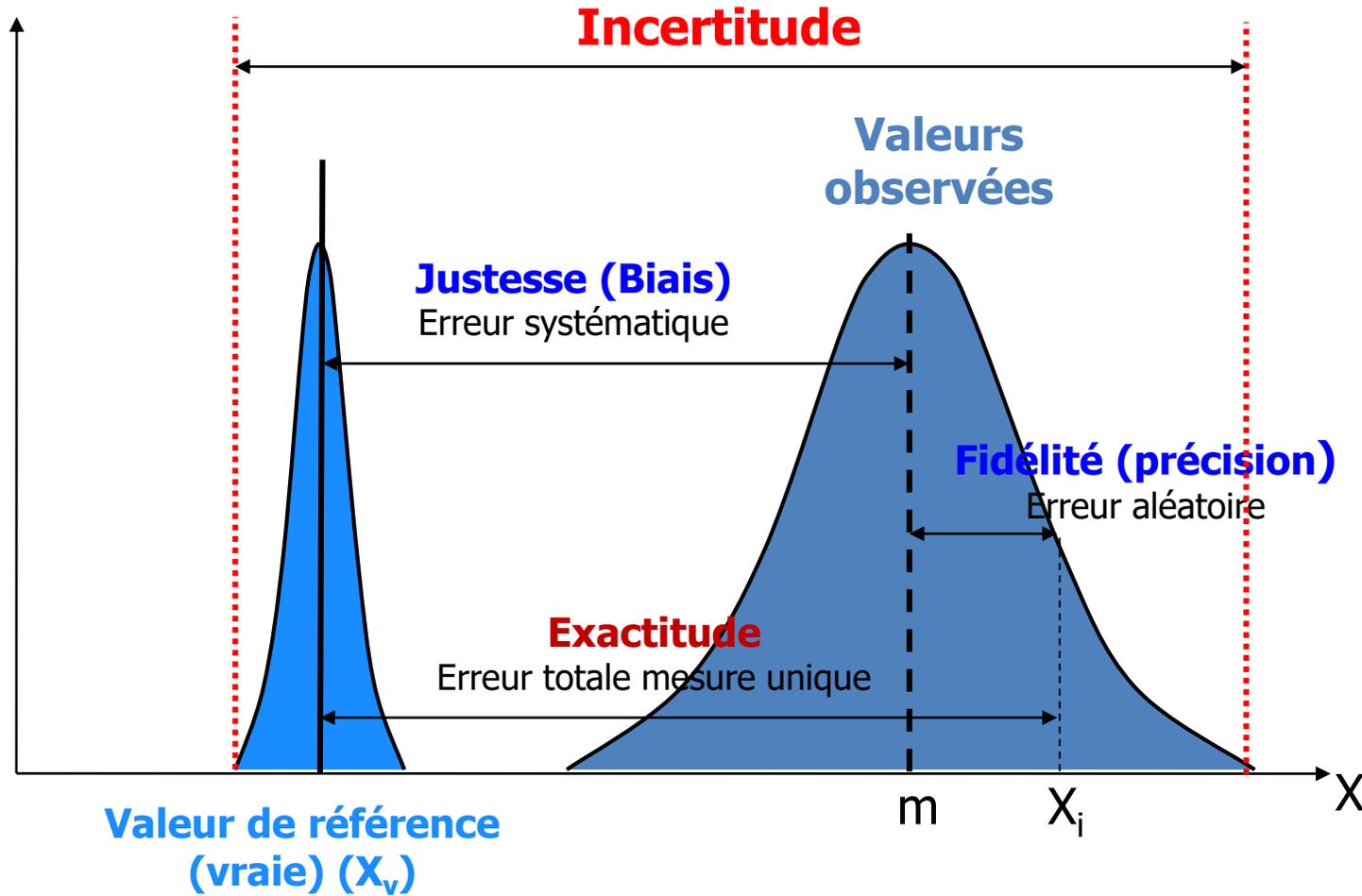
Garantir la qualité des résultats

- **Utiliser des procédures validées**
- **Vérification / validation de méthodes**
 - Document Cofrac - Guides Techniques d'Accréditation
 - Vérifier les performances de la méthode
 - avant son utilisation
 - et au cours du temps

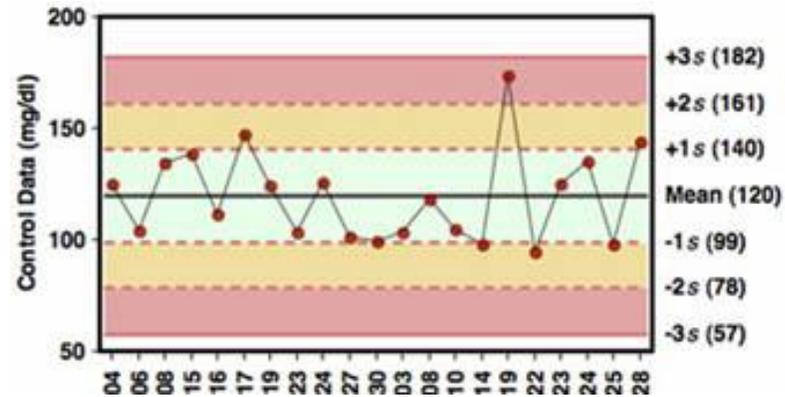
- **Erreurs aléatoires, Précision**
 - Similitude entre des mesures répétées sur un même échantillon
 - **Répétabilité , Reproductibilité (fidélité intermédiaire)**
- **Erreurs systématiques Exactitude-Justesse**
 - concentration de l'échantillon



- Précis et exact
- ▲ Imprécis, Exact
- ★ Précis, inexact
- Ni Précis Ni exact



- **Contrôle interne de qualité (CIQ) reflète INSTANTANE des performances de l'automate**

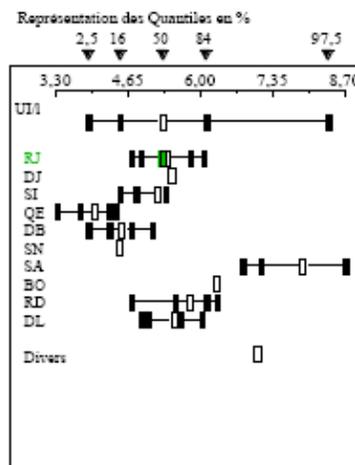
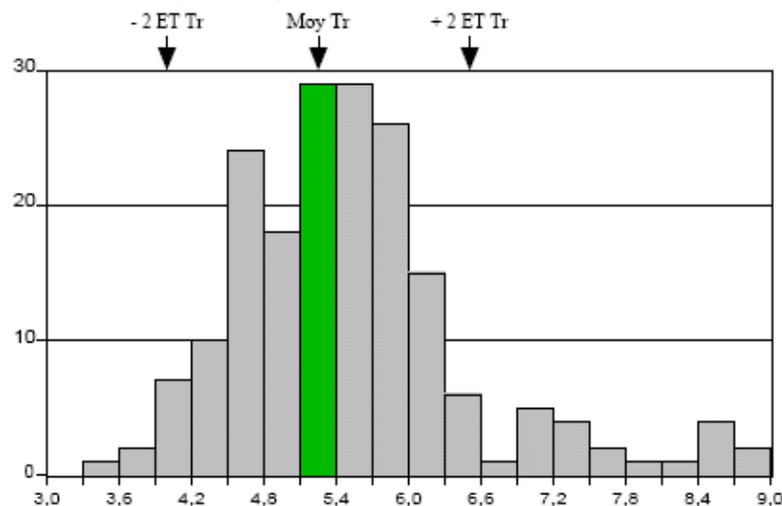


- **Évaluation externe de la qualité (EEQ) ou comparaison inter-laboratoire**

SERUM : 7I 5B (19/09/07)

LH

UI/1



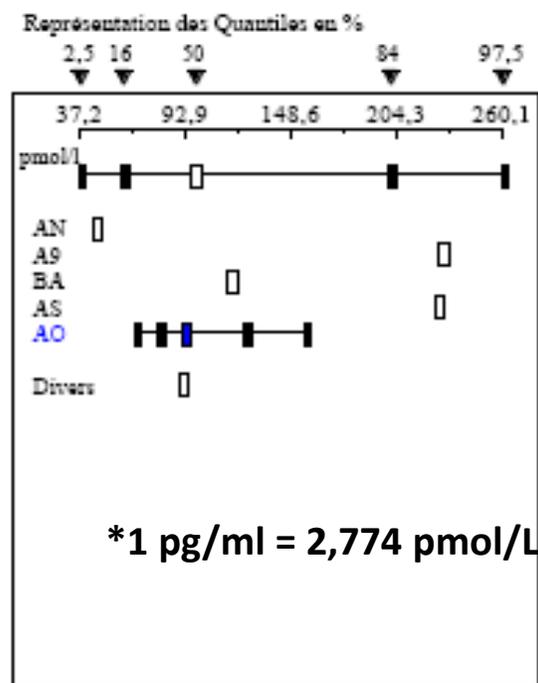
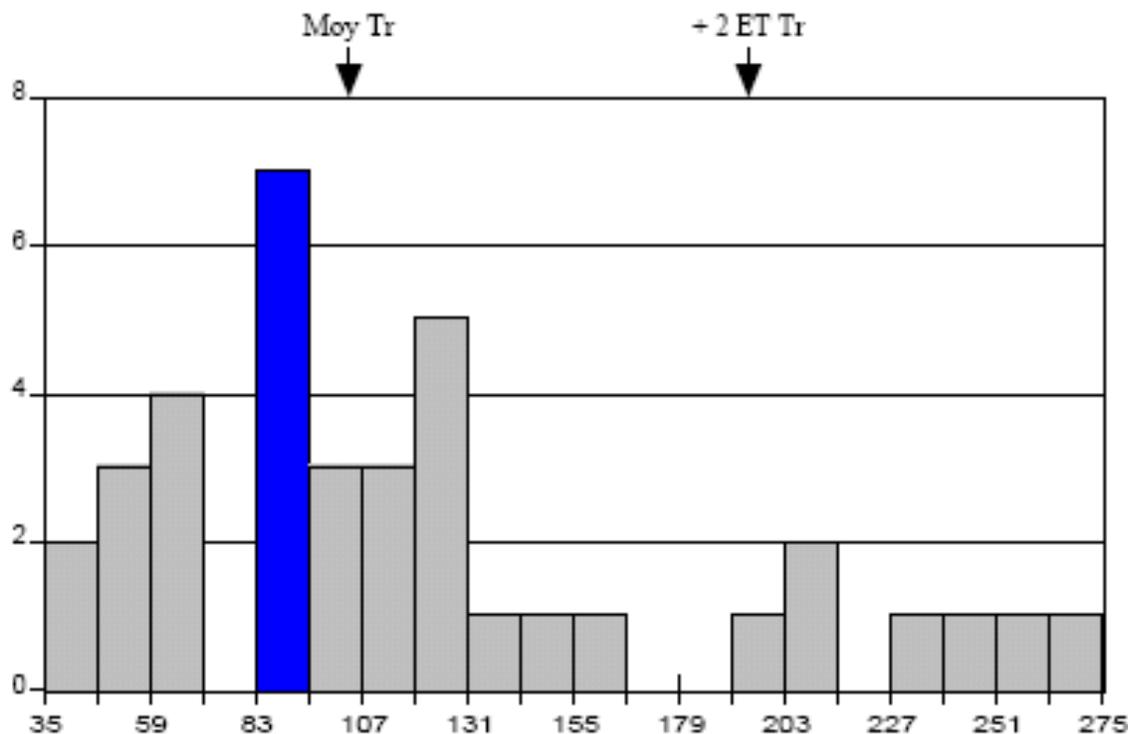
Codes	Techniques ou Appareils	Nb	Nb %	Nb Tr	ET Tr	CV Tr	Moy Tr	Moy %	Médiane	Lim Acc	% hors lim
	TOUTES TECHNIQUES	187	100,0	165	0,63	11,9	5,25	100,0	5,30		
RJ	ABBOTT "Architect i1000/i2000"	18	9,6	18	0,37	6,9	5,42	103,1	5,40	4,61 - 6,23	0,0
DJ	ABBOTT "AxSym"	11	5,9	9	0,20	3,7	5,46	104,0	5,46	4,64 - 6,28	0,0
SI	BAYER "ACS180/ADVIA/A.CP LH 2"	29	15,5	24	0,13	2,6	5,16	98,2	5,20	4,39 - 5,94	0,0
	ADVIA Centaur	23	12,3	20	0,17	3,2	5,14	97,9	5,20	4,37 - 5,92	0,0
QE	BECKMAN "Access/Dxi800/Lxi725"	13	7,0	12	0,22	5,3	4,10	78,1	4,05	3,49 - 4,72	7,7
	Access / Access 2	6	3,2	6	-	-	4,08	77,7	4,25		
	Dxi 800	7	3,7	7	-	-	4,01	76,3	4,00		
DB	BIOMERIEUX "Vidas"	24	12,8	22	0,19	4,2	4,56	86,7	4,55	3,97 - 5,24	4,2
SN	BRAHMS "Kryptor"	6	3,2	6	-	-	4,41	83,9	4,50		
SA	DPC "Immulinite/Imm.2000/Imm.2500"	13	7,0	13	0,68	8,6	7,91	150,5	7,90	6,72 - 9,09	0,0
	Immulinite 2000	8	4,3	8	-	-	8,19	155,8	8,40		
	Immulinite 2500	5	2,7	5	-	-	7,46	142,0	7,30		
BO	IMMUNOTECH "IRMA"	7	3,7	7	0,97	15,0	6,50	123,7	6,30	5,53 - 7,48	28,6
RD	ROCHE "Elec/Mod/Cobas6000"	43	23,0	39	0,23	4,0	5,86	111,5	5,80	4,98 - 6,74	4,7
	Elecsys	20	10,7	18	0,27	4,6	5,91	112,5	5,92	5,03 - 6,80	10,0
	Modular	14	7,5	12	0,15	2,6	5,81	110,6	5,80	4,94 - 6,68	0,0
	Cobas 6000 e 601	9	4,8	8	-	-	5,79	110,1	5,80		
DL	TOSOH "AIA 21/600 II/1800/360"	16	8,6	15	0,28	5,2	5,37	102,1	5,50	4,56 - 6,17	6,3
	AIA 21/600 II	9	4,8	9	-	-	5,57	105,9	5,60		
	AIA 1800	7	3,7	7	-	-	5,23	99,5	5,20		
	DIVERS	7	3,7	-	-	-	-	-	7,09		

Laboratoire 5848 : 5,30 UI/1

** SERUM : SD 5A (19/09/07)

ALDOSTERONE

pmol/l *



*1 pg/ml = 2,774 pmol/L

Codes	Techniques ou Appareils	Nb	Nb %	Nb Tr	ET Tr	CV Tr	Moy Tr	Moy %	Médiane
	TOUTES TECHNIQUES	37	100,0	33	45,44	43,5	104,4	100,0	98,4
							Laboratoire 848 : 93,0 pmol/l		
AN	CIS bio international "RIA CT iode 125"	7	18,9	7	9,58	18,8	51,1	48,9	47,2
A9	DIASORIN "P2714 iode 125"	3	8,1	3	- -	- -	233,3	223,5	230,0
BA	DPC "Coat-A-Count iode 125"	5	13,5	5	14,41	12,4	116,5	111,6	119,0
AS	DSL France "Active Coated Tube RIA"	4	10,8	4	- -	- -	232,3	222,4	227,5
AO	IMMUNOTECH "RIA iode 125"	17	45,9	15	19,35	19,7	98,4	94,2	93,0
	DIVERS	1	2,7	- -	- -	- -	- -	- -	91,5

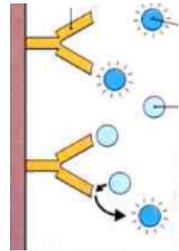
Mesure de l'aldostéronémie

- Environ 50 laboratoires
- 7 méthodes différentes

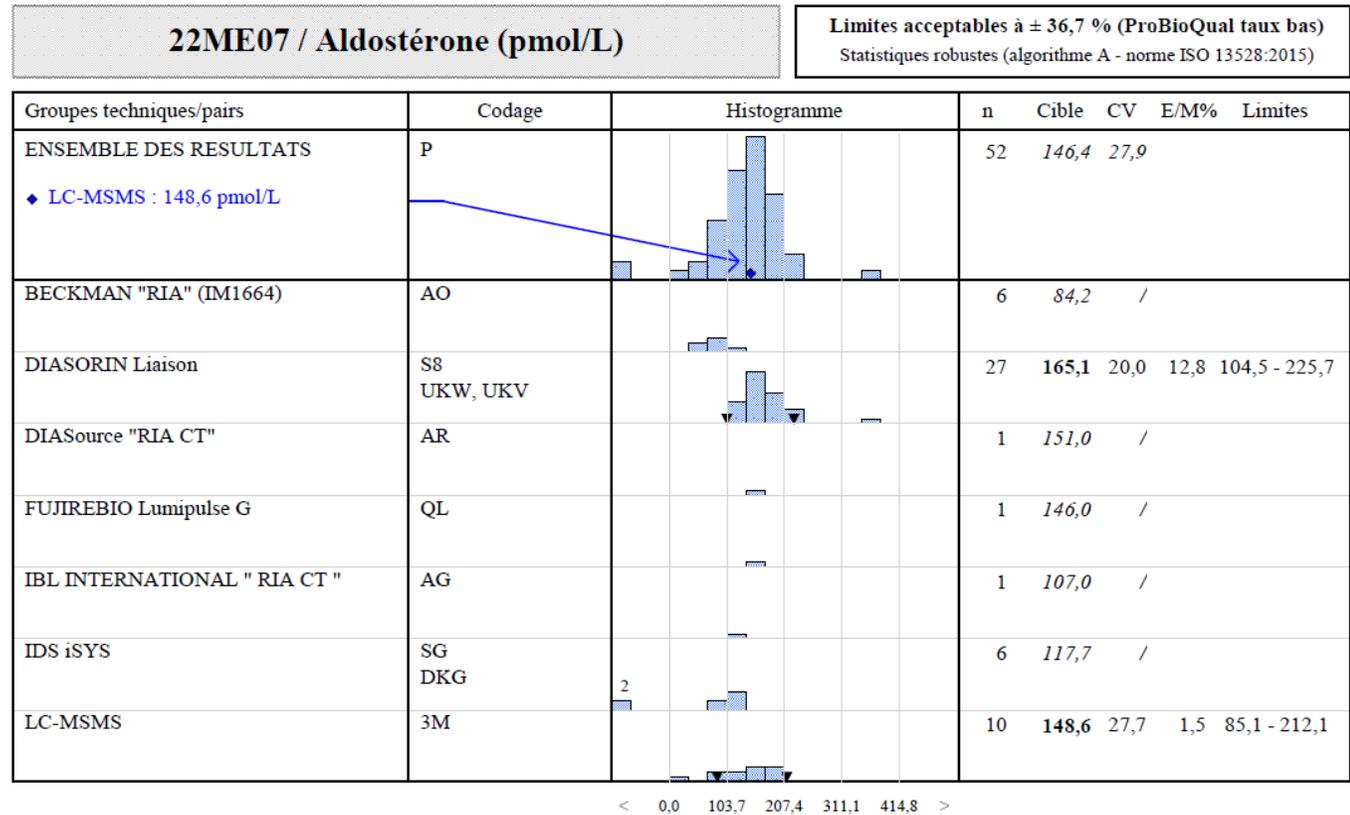
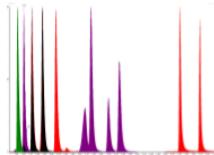
- Immunoanalyse

Détection RIA

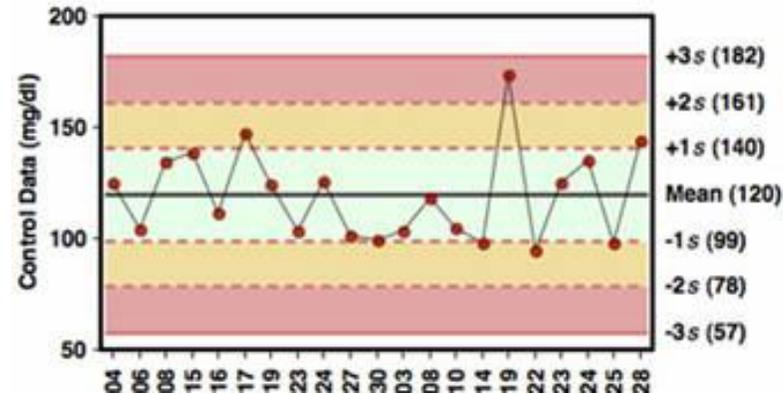
Détection CLIA



- Développement de la LC-MSMS



- **Contrôle interne de qualité (CIQ)**



- **Évaluation externe de la qualité (EEQ) ou comparaison inter-laboratoire**
- **Détermination de l'incertitude de mesure (erreur totale analytique)**



- **Erreurs aléatoires, Précision**
 - Similitude entre des mesures répétées sur un même échantillon
 - **Répétabilité , Reproductibilité (fidélité intermediaire)**
- **Erreurs systématiques Exactitude-Justesse**
 - concentration de l'échantillon
- **Spécificité , sélectivité**
- **Sensibilité, limite de détection, limite de quantification, domaine de linéarité**



Sensibilité analytique : 0,4 ng/L (rénine)

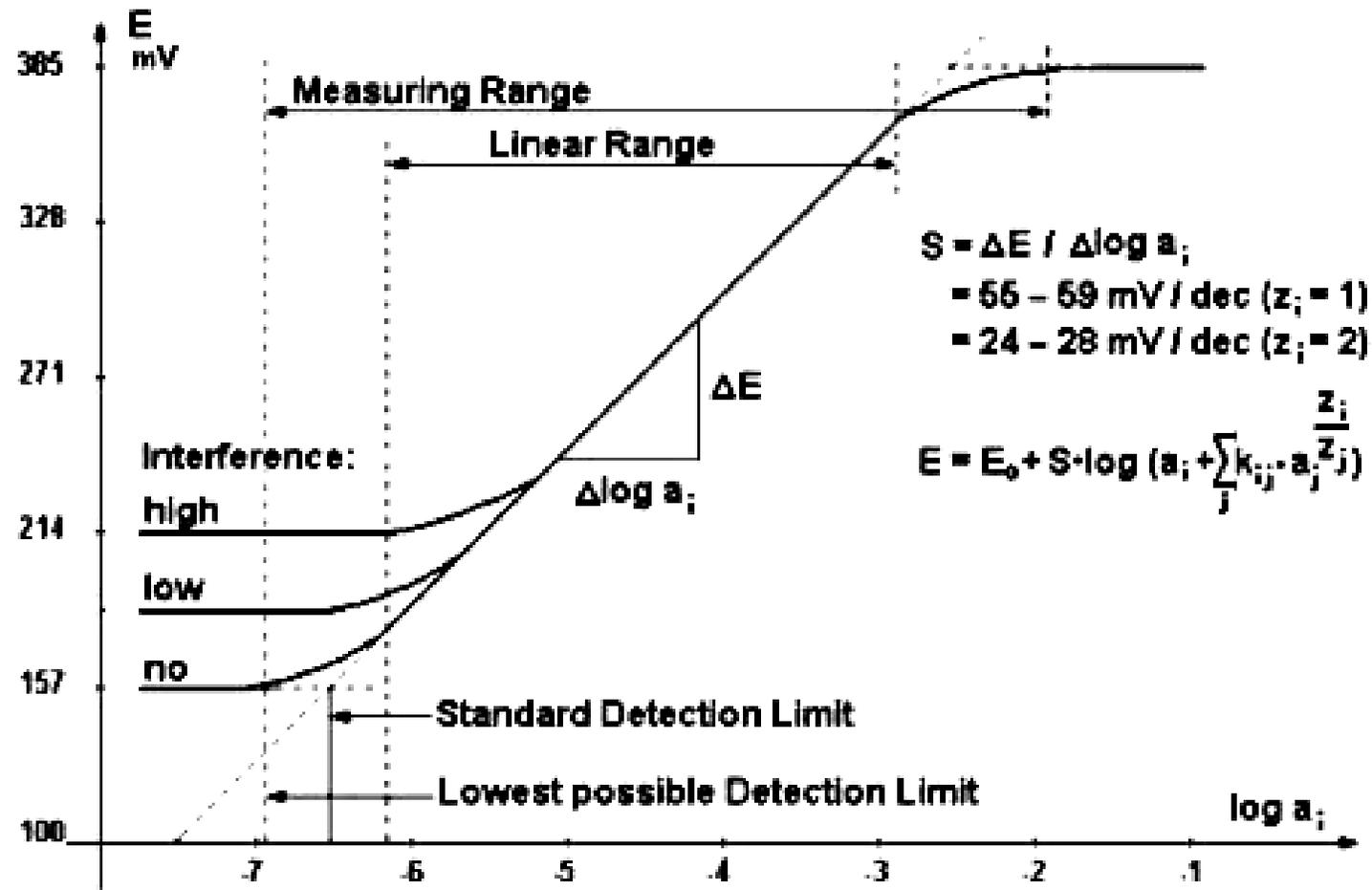
LoD « limite de détection » :
analyse de 30 mesures du blanc
 $m + 3sd$

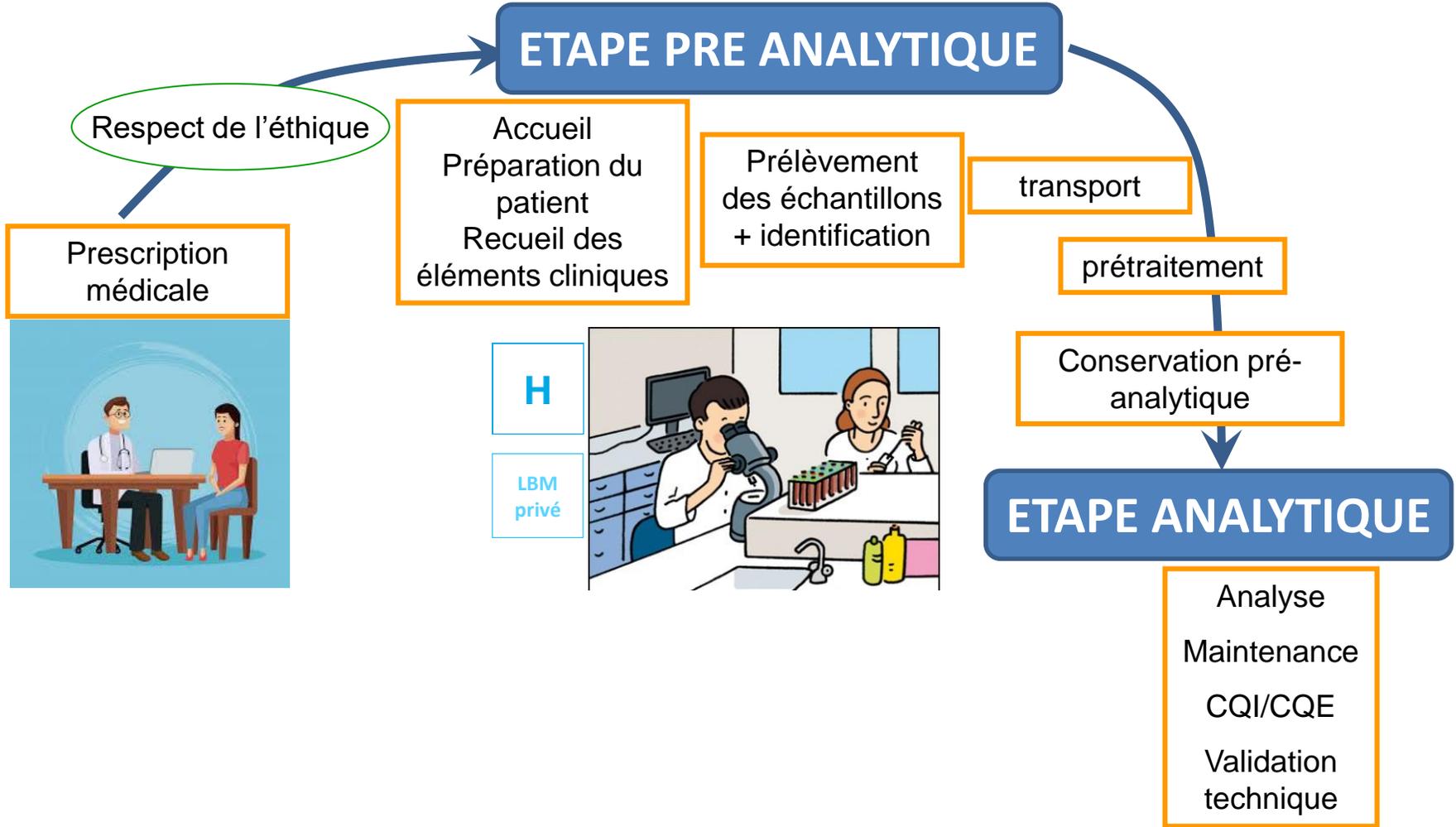
1,1 ng/L (rénine)

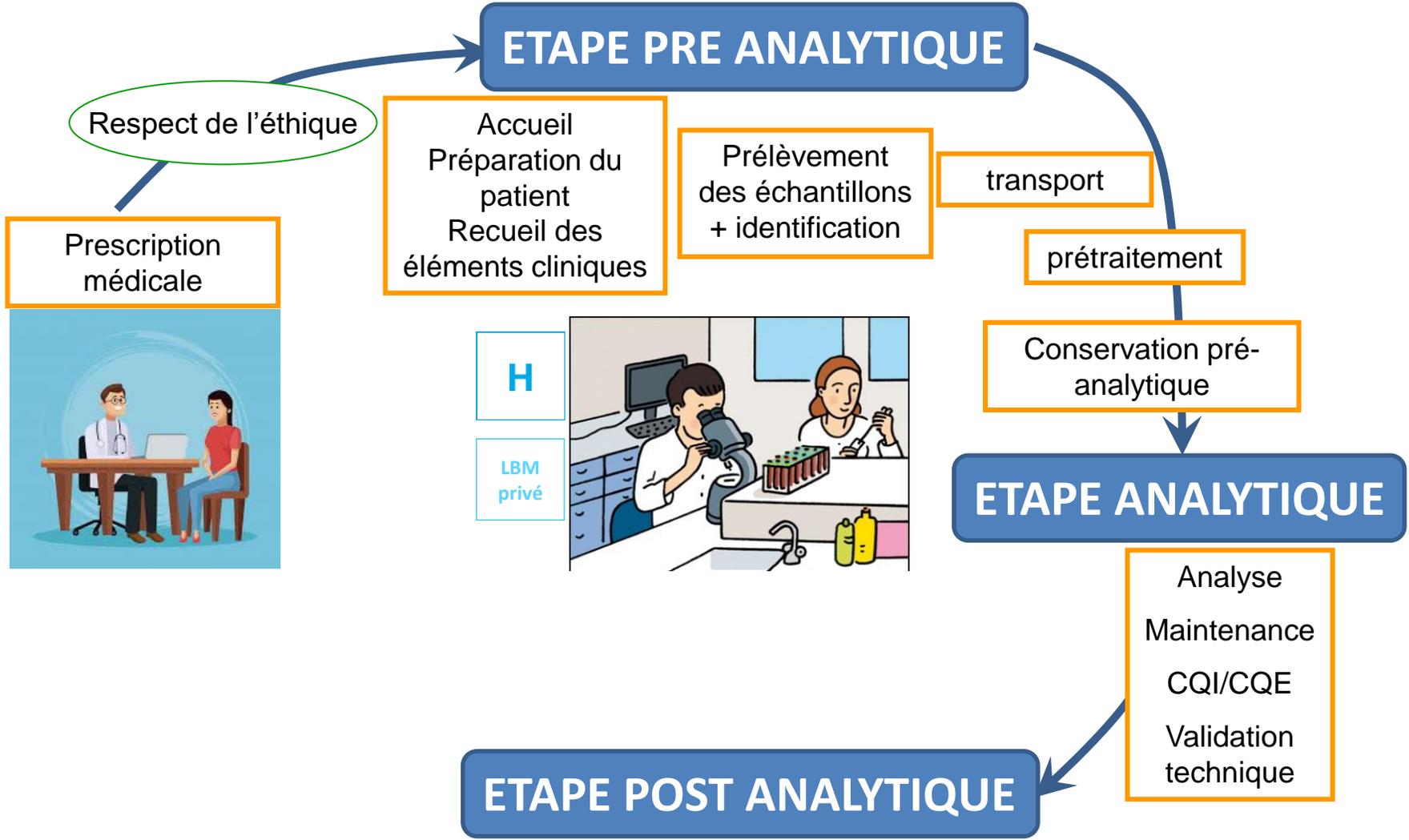
LoQ « limite de quantification » :
mesure plusieurs fois dans la même série et dans des séries différentes
 $CV < 20\%$ ($CV = ET/m$)
3 ng/L (rénine)

Variations dues au dosage

- domaine de linéarité







- **Interpréter un résultat**

- Validation des résultats bruts
- Cohérence de l'ensemble du bilan, des résultats
 - Variabilité biologique intra-individuelle /interindividuelle: valeurs de référence
 - Seuils de décision: limite entre population de référence et population de malade: notion de marqueur.
 - Variabilité biologique (liée cdt° physio du patient)
 - Réponse binaire ou quantitative
 - Interférences ?

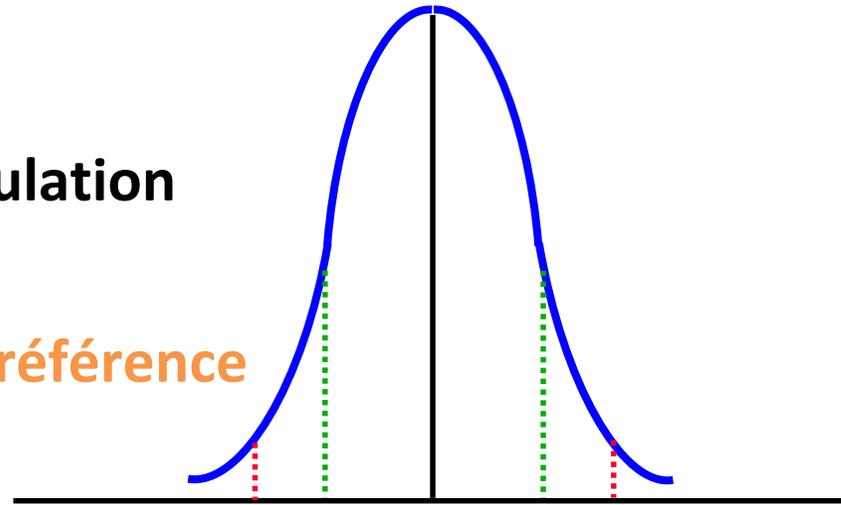


- Notion de déviation standard (DS) ou écart-type : valeur statistique

1 DS environ 66 à 68% de la population

2 DS environ 95% = **intervalle de référence**

3 DS environ 99%



- Valeurs des extrêmes

Valeurs extrêmes de la population prise comme témoin

Variable selon la question médicale posée ex: Troponine et IDM -> **limite de décision**

Variable selon les méthodes (immunodosage)

Variable selon sexe, âge ...

Attention aux unités (SI préféré)

Résultats	Unités	Valeurs de référence	Antériorités
-----------	--------	----------------------	--------------

BILAN SANGUIN

Aspect du plasma hépariné	Non Hémolysé				
Sodium <i>Potentiométrie indirecte Architect Abbott***</i>	136	mmol/L	136-145	133	30/08/2022 06:40
Potassium <i>Potentiométrie indirecte Architect Abbott***</i>	3.9	mmol/L	3.4-4.5	5.9	30/08/2022 06:40
Chlore <i>Potentiométrie indirecte Architect Abbott***</i>	102	mmol/L	98-107	102	30/08/2022 06:40
Bicarbonates <i>M. PEP carboxylase UV Architect Abbott***</i>	23	mmol/L	23-31	23	30/08/2022 06:40
Urée <i>Uréase UV cinétique Architect Abbott***</i>	9.2	mmol/L	3.0-9.2	6.9	30/08/2022 06:40
Créatinine <i>M. enzymatique Architect Abbott***</i>	↑ 109	μmol/L	64-104	82	30/08/2022 06:40
Estimation du DFG par CKD-EPI <i>calcul CKD EPI</i>	↓ 59	mL/min/1.73m ²	>90	83	30/08/2022 06:40
<p>Pour les sujets afro-américains, le résultat doit être multiplié par 1.15. Cette estimation du DFG par CKD-EPI n'est pas valable : - chez la personne âgée de plus de 75 ans ; - chez le patient présentant un poids extrême ou des variations de la masse musculaire ; - chez le patient dénutri.</p>					
Protéines <i>Méthode au Biuret/KI Architect Abbott***</i>	72	g/L	62-80	Hémolysé	30/08/2022 06:40
Glucose <i>Méthode Hexokinase Architect Abbott***</i>	5.2	mmol/L	4.6-6.1	4.7	30/08/2022 06:40
soit en g/L	0.93	g/L	0.83-1.10	0.84	30/08/2022 06:40
Calcium <i>Photométrie Arsenazo III Architect Abbott***</i>	2.33	mmol/L	2.20-2.50	2.31	30/08/2022 06:40
ASAT / TGO <i>Recom. IFCC avec PP Architect Abbott***</i>	↑ 37	U/L	5-34	28	16/08/2022 06:00
ALAT / TGP <i>Recom. IFCC avec PP Architect Abbott***</i>	50	U/L	<55	22	16/08/2022 06:00
Gamma-GT <i>IFCC 37°C (substrat carboxylé) Architect Abbott***</i>	↑ 112	U/L	12-64	43	16/08/2022 06:00

Ex: performance marqueurs sériques de la T21

T1	Malade	Sain	Total tests	Valeurs prédictives
Test positif	82	1631	1713	VPP 4,8%
Test négatif	6	47800	47806	VPN 99,98%
Total tests	88	49431	49519	
	Se 93,2%	Sp 96,7%		

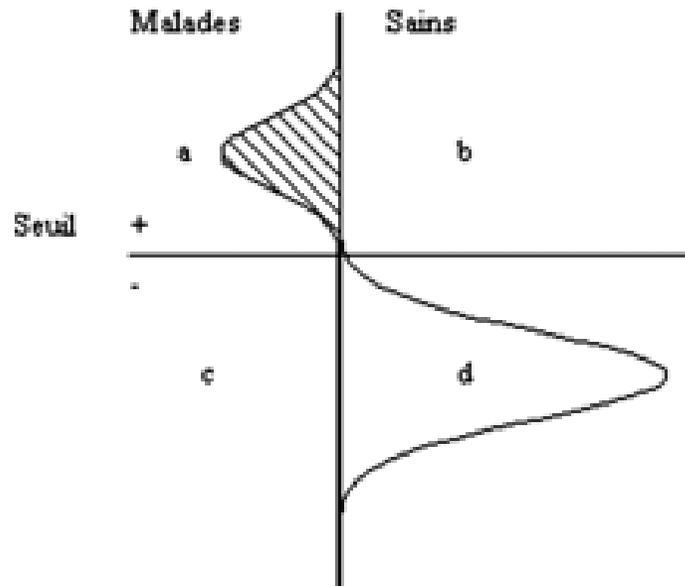
T2	Malade	Sain	Total tests	Valeurs prédictives
Test positif	12	874	886	VPP 1,35%
Test négatif	12	10361	10373	VPN 99,9%
Total tests	24	11235	11259	
	Se 50%	Sp 92,2%		

T1 et T2	Malade	Sain	Total tests	Valeurs prédictives
Test positif	94	2423	2517	VPP 3,73%
Test négatif	18	58143	58161	VPN 99,9%
Total tests	112	60566	60678	
	Se 83,9%	Sp 95,9%		

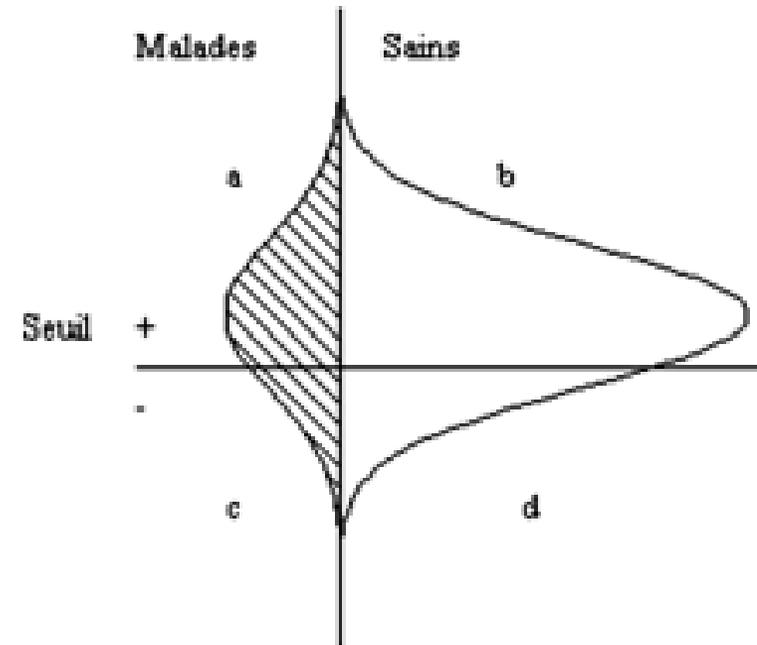
VPP et VPN
Région Rhône
Alpes Auvergne
2016

On rate peu de vraies malades mais il y a beaucoup de faux (+)

Qualité intrinsèque d'un test

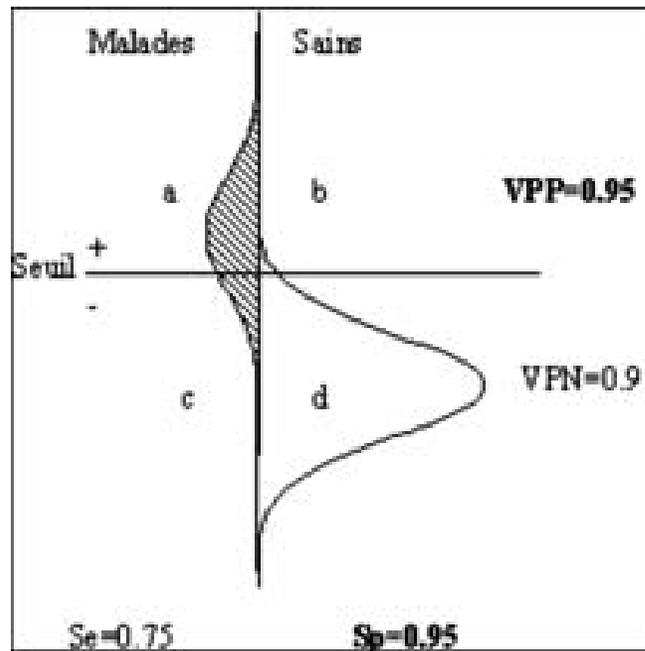


Test discriminant



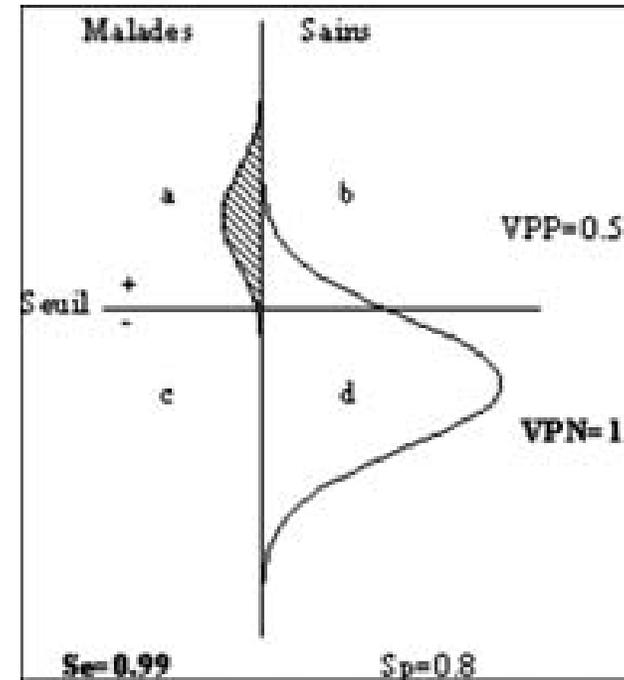
Test Non discriminant

Diagnostic



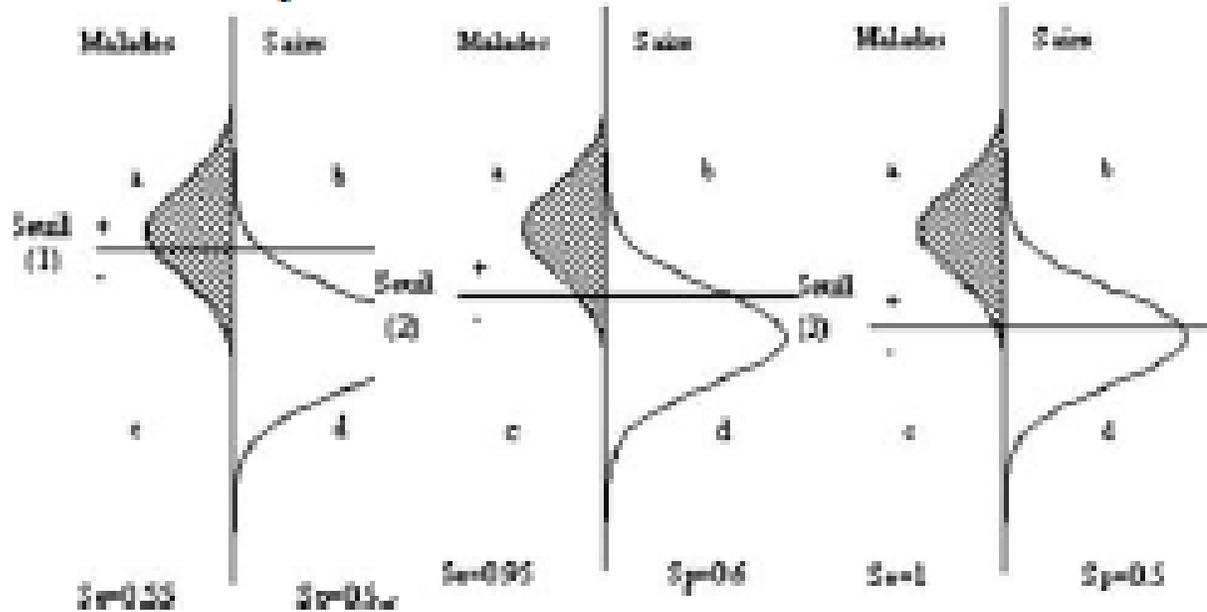
Peu de faux
diagnostics

Dépistage



Peu de patients
non dépistés

Se et Sp évoluent en fonction du seuil



Peu de FP:

Utile pour retenir une patho

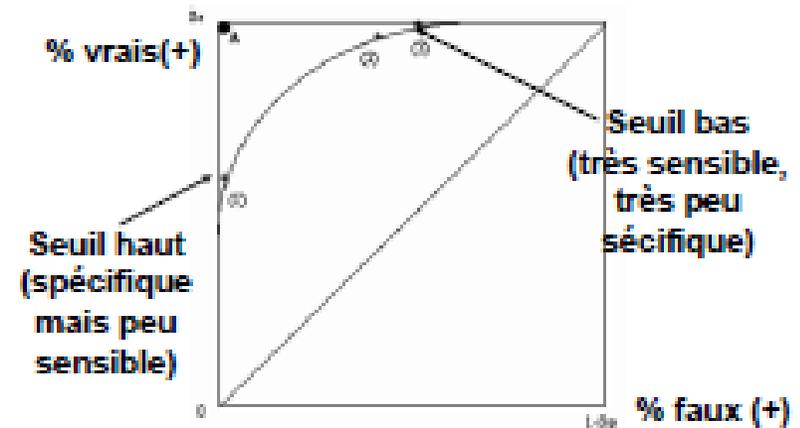
Beaucoup de FN: ne pas utiliser pour Dc!

Peu de FN

Utile pour exclure une patho

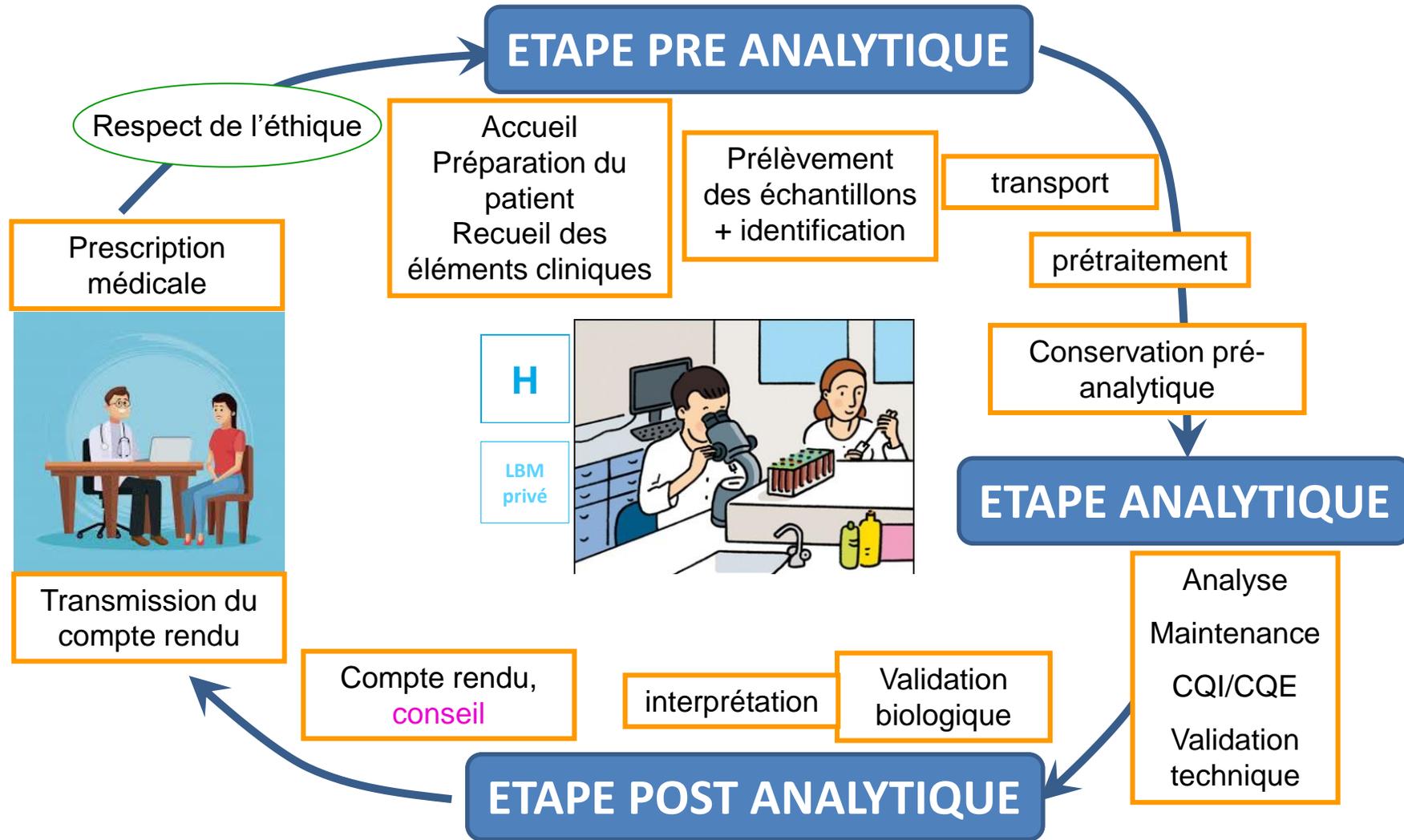
Beaucoup de FP !

Courbe ROC construite selon précédent diagramme



Test d'autant + informatif que aire importante (A)

- **Par le Biologiste**
- **Réalisée a posteriori si elle est impossible en temps réel**
- **Si utilisation des résultats par le clinicien avant la validation, celui-ci engage sa propre responsabilité (contrat entre le biologiste et le clinicien)**



- **Phase analytique est réalisée à proximité du patient, en dehors des locaux du laboratoire de biologie médicale, au sein d'établissements de soins publics ou privés et par du personnel extérieur au laboratoire.**

IV) Biologie Délocalisée



- **Norme NF EN ISO 22870 (biologie délocalisée) (incorporée dans la norme 15189 en 2022 dans la version anglaise)**
 - « analyses réalisées à proximité du patient ou à l'endroit où il se trouve, dont le résultat peut entraîner une éventuelle modification des soins prodigués au patient »
 - Ex : GDS, Hémoglobine A1c, Marqueurs cardiaques, CRP, Lactates, Coagulation, Calcium ionisé ...
- => **Responsabilité du Biologiste**

Ex: Gaz du sang

Le prélèvement est **réalisé par un médecin** car ces mesures se font sur du sang artériel en majeure partie

Prélèvement en général sur héparine et à **l'abri de l'air et transmis immédiatement** au laboratoire et analysé en moins de 15 minutes



- **Norme NF EN ISO 22870 (biologie délocalisée)**
 - « analyses réalisées à proximité du patient ou à l'endroit où il se trouve, dont le résultat peut entraîner une éventuelle modification des soins prodigués au patient »
 - Ex : GDS, Hémoglobine A1c, Marqueurs cardiaques, CRP, Lactates, Coagulation, Calcium ionisé ...
 - ⇒ **Responsabilité du Biologiste**
- **Qui est autorisé à réaliser des EBMD ?**
 - Arrêté du 13 août 2014 : autres que les biologistes médicaux en vue d'une décision thérapeutique urgente
 - Les médecins
 - Les sages-femmes
 - Les infirmiers
 - Les techniciens de laboratoire

- **L'article L. 6211-3 du Code de la Santé Publique [G] précise :**
 - « ne constituent pas un examen de biologie médicale un test, un recueil et un traitement de signaux biologiques, à visée de **dépistage, d'orientation diagnostique** ou **d'adaptation thérapeutique immédiate**. »
 - ...sans substituer au diagnostic réalisé au moyen d'un examen de biologie médicale. »

Le résultat est rendu sous la responsabilité du professionnel de santé réalisant les tests

Arrêté du 1 août 2016 : ce qui n'est pas le la biologie médicale

Tests	Utilisateurs
Bandelettes urinaires	IDE, SF, M
Test capillaire d'évaluation de la glycémie	IDE, SF, M, P
Test vaginal de rupture prématurée des membranes foetales	SF, M, PSRM
Test transcutané d'évaluation de la bilirubinémie	SF, M, PSRM
Mesure transcutanée des paramètres d'oxygénation	SF, M, PSRM
Test rapide d'orientation diagnostiques (TROD) VIH et hépatite C	SF, M, PSRM
Test oro-pharyngé d'orientation diagnostique des angines à streptocoque du groupe A	M, PSRM, P
Test naso-pharyngé d'orientation diagnostique de la grippe	M, PSRM, P
Test capillaire de détection de l'état immunitaire vis à vis du tétanos	M, PSRM
Test d'évaluation de la glycémie et de la cétonémie	M, PSRM

IDE : Infirmier Diplômé d'Etat, SF : Sage-Femme, M : Médecin, PSRM : Professionnel de Santé sous la Responsabilité d'un Médecin, P : Pharmacien

- **≠ types de tests**

- **Usage médical :**

- tests réalisés par du personnel médical ou paramédical; Bedside testing, **point of care testing (POCT)=EBMD**
 - doctor 's tests TROD Test rapide **d'orientation** diagnostique

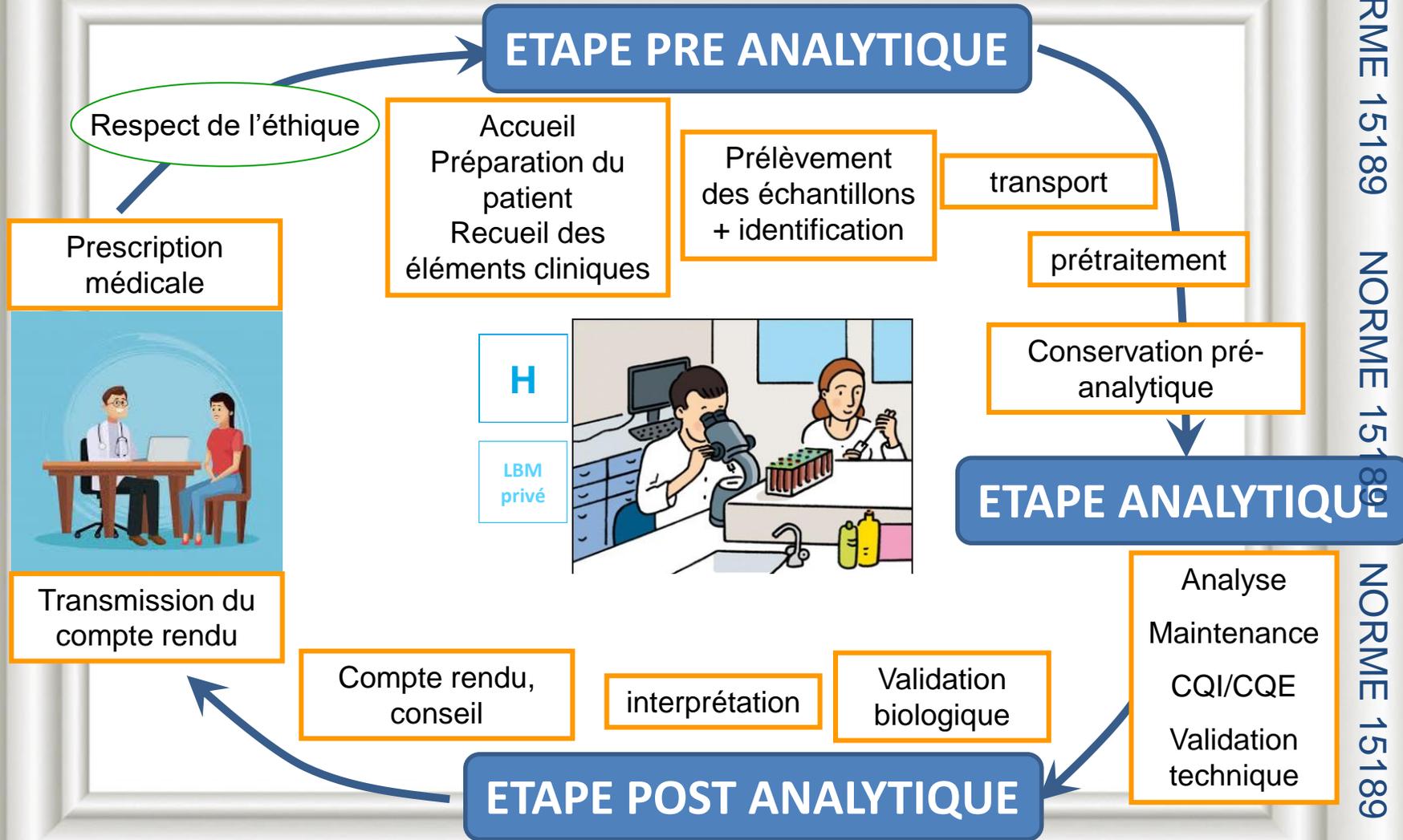
- **Utilisation principalement par le grand public :**

- Autotests, Home tests ; ex: glycémie, tests de grossesse



Take home messages





- Prescrire un test **ne fait pas un diagnostic !**
- Savoir quelles sont les indications et les performances
- Suivre les recommandations officielles
- Hiérarchiser sa prescription
- **Discussion clinico biologique +++**
- Expliquer et commenter les résultats aux patients
- Se tenir au courant des évolutions
- Le biologiste doit bien connaître les techniques
- Contraintes réglementaires, économiques +++

- **Contact**

Dr Florence Roucher-Boulez florence.roucher@chu-lyon.fr

Laboratoire de Biochimie et Biologie Moléculaire -Centre de Biologie Pathologie Est