

1. Objet et domaine d'application

Ce mode opératoire décrit les différentes étapes pour réaliser les différents tests dynamiques.

Il s'applique à l'ensemble de ces prélèvements réalisés sous la responsabilité du laboratoire.

2. Classement et archivage

Les modalités de classement et d'archivage sont décrites dans la procédure « Gestion des enregistrements et archivage ».

3. Sigles et définitions

Néant

4. Bibliographie

CNBH. Protocoles d'explorations en biochimie. Octobre 2001.

OMS Rapport mondial sur le diabète 2016.

5. Responsabilités

Les prélèvements sont réalisés sous la responsabilité du biologiste et sont pratiqués par le personnel autorisé.

Les prélèvements avec injection sont réalisés par les médecins biologistes ou infirmières.

Les prélèvements sans injection sont réalisés par tous les préleveurs habilités.

6. Déroulement de l'activité

6.1. Tableau récapitulatif des tests dynamiques

Etat du patient	prélèvement	Heures de réalisation / Durée de l'épreuve	remarques
GROSSESSE Test de charge au glucose Code Hexalis : TCG			
A jeun Repos strict	<ul style="list-style-type: none"> ➤ T = 0 : prise de sang. ➤ Administration per os de la solution de glucose (75g). ➤ T+60' + 120' : prises de sang sur tube fluoro-oxalaté. 	Le matin exclusivement/ 2 h	
HYPERGLYCEMIE PROVOQUEE Code Hexalis HGPO			
A jeun Repos strict	<ul style="list-style-type: none"> ➤ T = 0 : prise de sang. ➤ Administration per os de la solution de glucose : Adultes 75g Enfants 1.75g/kg (avec max 75g) ➤ <u>Prises de sang à</u> T+ 60 ,120 et 180 minutes 	Le matin exclusivement / 3 h	Suivre recommandations de la prescription si demande : sur 4 ou 5h et/ou prélèvements toutes les 30mn
Test au Dectancyl® Code Hexalis DECTA			
A jeun	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <u>T 0</u>: prélèvement d'un tube sec pour le dosage de la cortisolémie. 	8h du matin	Prise de Dectancyl (1 mg) à minuit la veille
Test au Synacthène immédiat Code Hexalis SYNA			
A jeun Au repos depuis 15'	<ul style="list-style-type: none"> ➤ <u>Prélèvement T0</u> : à 8 heures du matin précisément prélever 1 tube sec pour dosage (taux de base). ➤ Injecter immédiatement après par voie IM 1 ampoule de Synacthène immédiat à 0,25 mg (demi-dose si âge <18 mois) ➤ Injection IV possible (patients sous anticoagulants) ➤ <u>Prélèvement à T30</u> : exactement 30 minutes après, prélever 1 autre tube sec pour dosage. ➤ <u>Prélèvement à T60</u> : exactement 1 heure après prélever 1 autre tube sec pour dosage. 	8h du matin / 1 h	Ampoule de Synacthène 0.25 achetée en pharmacie par le patient Dosage possible de précurseurs hormonaux si mentionné sur l'ordonnance

6.2. Réalisation des différents tests

Test de charge en GLUCOSE (Dépistage diabète gestationnel)

PRINCIPE

Test de charge en glucose en vue de dépister un diabète gestationnel

PREPARATION DU PATIENT

- Sujet à jeun depuis la veille 20 heures.
- Repos strict, allongé si possible ne fumant pas avant et pendant l'épreuve.
- Epreuve effectuée exclusivement le matin.
- Le test n'est pas interprétable si le sujet a vomi ou s'est alimenté pendant l'épreuve.

PROTOCOLE

T 0 : prélever 1 tube pour glycémie

faire absorber en moins de 5 mn les **75 g de glucose**

T 60 mn et T 120 mn : prélever 1 tube pour glycémie.

RESULTATS

Diabète gestationnel si une valeur plus élevée que

-à jeûn :	0.92g/l	5.06 mmol/l
- T 60 mn :	1.80 g/l	9.90 mmol/l
-T 120 mn :	1.53 g/l	8.41 mmol/

Diagnostic criteria and classification of hyperglycaemia first detected in pregnancy (WHO/NMH/MND/13.2). Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2013.

HGPO (HYPERGLYCEMIE PROVOQUEE PAR VOIE ORALE)

PRINCIPE

Etude de la tolérance du patient à une **charge orale de glucose et dosage de la glycémie** pour établir le diagnostic **de diabète** ou d'une **hypoglycémie réactionnelle** liée à une sécrétion inappropriée d'insuline.

DUREE DE L'EPREUVE

3 heures si pas d'indication

sinon suivre la prescription médicale (de 2 à 5h avec possiblement des prises de sang toutes les 30mn si préciser sur l'ordonnance)

PREPARATION DU PATIENT

- Apport **normo-glucidique** d'au moins 200 g d'hydrates de carbone dans les **3 jours** qui précèdent le test.
- Suppression pendant plusieurs jours avant l'épreuve de : corticoïdes, hormones thyroïdiennes, diurétiques, sulfamides, α et β -bloquants, oestrogénostatifs (ils diminuent la tolérance au glucose).
- Sujet à jeun depuis la veille 20 heures.

- Repos strict, allongé si possible ne fumant pas avant et pendant l'épreuve.
- Epreuve effectuée exclusivement le matin.
- Le test n'est pas interprétable si le sujet a vomi ou s'est alimenté pendant l'épreuve.

PROTOCOLE

T 0 : prélever 1 tube pour **glycémie**

faire absorber en moins de 5 mn les **75 g de glucose** chez l'adulte

T+60, T+120 et T+180 mn : prélever 1 tube pour **glycémie**. (Et 1 pour **peptide C** et **insuline** si prescrit).

RESULTATS

Critères de diagnostic du diabète :

- Symptômes cliniques de diabète (polyurie, polydipsie...) associés à une glycémie > 2 g/l à tout moment de la journée, ou
- Glycémie à jeun $> 1,26$ g/l (absence de prise alimentaire depuis au moins 8 heures) ou
- Glycémie > 2 g/l à la deuxième heure d'une HGPO standard OMS.

Definition and diagnosis of diabetes and intermediate hyperglycaemia. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2006.

	Glycémie à T 0		Glycémie à T 120	
	(g/l)	(mmol/l)	(g/l)	(mmol/l)
Sujets normaux	< 1.10	< 6.1	<1.40	< 7.8
Intolérance au glucose			1,4 à 2	7.8 à 11.1
Impaired fasting glucose IFG	1.10 à 1.26	6.1 à 7		
Diabète	>1.26	> 7	> 2	> 11.1

L'interprétation repose sur les critères glycémiques définis par l'OMS en 1980 et 1985 et réévalués par l'American Diabete Association en 1997. Les glycémies à jeun et à 2 heures suffisent habituellement au diagnostic. Trois entités pathologiques sont ainsi individualisées : le **diabète patent**, l'**intolérance au glucose** et l'**Impaired fasting glucose (IFG)**. Etant donné la faible spécificité et sensibilité de l'HGPO, il convient d'interpréter avec prudence les résultats et renouveler le test si nécessaire.

CNBH. Protocoles d'explorations en biochimie. Octobre 2001. Version 2.

Definition and diagnosis of diabetes and intermediate hyperglycaemia. Genève, Organisation mondiale de la Santé, 2006.

Hypoglycémie fonctionnelle :

Son diagnostic repose sur une glycémie inférieure à 2,2 mmol/l (0,39 g/l) 2 à 5 heures après l'ingestion de glucose. Les taux anormalement élevés de peptide C et d'insuline permettent de préciser l'étiologie.

CNBH. Protocoles d'explorations en biochimie. Octobre 2001. Version 2. Page 92

Test au DECTANCYL® (test de freinage nocturne FAIBLE)**PRINCIPE**

La dexaméthasone (DECTANCYL®), corticoïde de synthèse (analogue du cortisol), **freine**, à faible dose, **la sécrétion hypophysaire** physiologique **de l'ACTH**, ce qui empêche la synthèse du cortisol.

Cette épreuve permet surtout de différencier :

- les hypercorticismes d'entraînement (obésité), qui sont des hypercortisolismes freinables,
- les hypercorticismes type Cushing,
- les hypercorticismes tumoraux primitifs, qui sont non freinables,

et aide à certains diagnostics délicats d'hyperplasie surrénale congénitale chez l'enfant.

La dexaméthasone n'interfère pas avec les dosages de cortisol plasmatique et urinaire.

PREPARATION DU PATIENT

- **Sujet à jeun** depuis 12 heures, **au repos** pendant l'épreuve. Tous les prélèvements de cortisol se feront à jeun à **8 heures**.

PROTOCOLE

J 0 à 24 h : 2 comprimés de DECTANCYL®. (1mg)

J 1 à 8 h : prise de sang pour dosage de **cortisol**.

RESULTATS**• Valeurs usuelles :**

Elles sont dépendantes des techniques utilisées ; en moyenne, chez l'adulte :

Cortisol sérique de base du matin : 190 - 675 nmol/l (le facteur de conversion nmol/l vers µg/l = x 0.37).

• Interprétation :

Réponse normale : (ou positive) le cortisol plasmatique s'abaisse d'au moins 50 % après dexaméthasone. Le freinage rapide s'il est efficace permet d'éliminer tous les hypercorticismes. La cortisolémie plasmatique doit être inférieure à 100 nmol/l. Des chiffres compris entre 140 et 270 nmol/l justifient l'utilisation d'un test long.

Réponse négative : le cortisol plasmatique, déjà élevé le premier jour, ne baisse pas. Ce type de réponse s'observe dans le **syndrome de Cushing quel qu'en soit la cause**.

Ce test est la plupart du temps suffisant pour éliminer un hypercorticisme d'entraînement (sujets obèses en particulier). En cas de réponse négative ou faiblement positive, il faudra recourir à un test standard (Test de LIDDLE).

CNBH. Protocoles d'explorations en biochimie. Octobre 2001. Version 2.

Test au SYNACTHENE® RAPIDE ou au SYNACTHENE® IMMEDIAT**PRINCIPE**

Etude de la stimulation de la capacité sécrétoire de la corticosurrénale après injection en IM de SYNACTHENE® (analogue synthétique de l'ACTH) et dosage du cortisol sérique.

PREPARATION DU PATIENT

- **Sujet à jeun** depuis 12 heures, **au repos** pendant l'épreuve, bien se renseigner pour le délai d'interruption en cas de traitement à l'hydrocortisone.
- Produit administré : **SYNACTHENE IMMEDIAT®** (1 ampoule de 0,25 mg) fourni par la pharmacie.

PROTOCOLE

- Prélèvement T0 : **à 8 heures du matin précisément** prélever 1 tube sec pour dosage (taux de base).
- Injecter **immédiatement après** par voie intramusculaire 1 ampoule de Synacthène immédiat à 0,25 mg (demi-dose si age <18 mois)
- Prélèvement à T30 : exactement 30 minutes après, prélever 1 autre tube sec pour dosage.
- Prélèvement à T60 : exactement 1 heure après prélever 1 autre tube sec pour dosage.

RESULTATS**• Valeurs usuelles :**

Elles sont dépendantes des techniques utilisées ; en moyenne, chez l'adulte :

Cortisol sérique : **matin** : 190 - 675 nmol/l. (8 à 25 ug/ dl)

(le facteur de conversion nmol/l vers µg/dl = x 0.037).

• Interprétation :

-Réponse normale : Augmentation du cortisol de 50 à 100 % du taux de base.

Une réponse insuffisante traduit un hypofonctionnement surrénalien.

-Réponse négative : le taux de cortisol, bas au départ, ne s'élève que peu ou pas. Ce type de réponse s'observe dans les insuffisances surrénales par atteinte de la glande.

-Réponse faible ou insuffisante : ce type de réponse s'observe lorsque la surrénale a longtemps été au repos du fait d'une insuffisance en ACTH (d'origine organique ou provoquée par une corticothérapie prolongée).

-Réponse exagérée : Le taux de base du cortisol, déjà élevé, double ou triple après stimulation.

Réponse observée dans le syndrome de CUSHING par hyperplasie surrénale.

Ce test manque parfois de sensibilité et possède une efficacité limitée en cas d'insuffisance surrénale secondaire.

CNBH. Protocoles d'explorations en biochimie. Octobre 2001. Version 2.

Test à la LHRH

PRINCIPE

Évaluer la fonction sécrétoire de l'hypophyse gonadotrope.

La LH-RH (Luteinizing Hormone Releasing Hormone, LH-RF, gonadoréline, Stimu-LH) ou hormone de libération de la LH est un décapeptide gonadotrope d'origine hypothalamique ou synthétique. Elle contrôle la libération hypophysaire de LH et dans une moindre mesure de FSH.

Elle est sécrétée de façon pulsatile par l'hypothalamus.

La réalisation d'un test à la LH-RH permet d'apprécier la capacité réactionnelle de l'hypophyse par l'intermédiaire du dosage des FSH et LH plasmatiques.

Dosage Réalisables : FSH et LH plasmatiques.

PREPARATION DU PATIENT

- sujet à jeun depuis 12 heures, n'ayant absorbé ni thé ni café, au repos pendant la durée de l'épreuve.
- femme en aménorrhée ou en début de phase folliculaire (J2 à J5) sans traitement oestro-progestatif.
- le test est contre indiqué chez la femme enceinte.
- prévenir le patient de la durée de l'épreuve (idéalement cette information doit être donnée soit à la prise de rendez-vous, soit avant l'enregistrement du dossier).

PROTOCOLE

- T = 0 : prélèvement puis injection intraveineuse lente (2minutes) de :
 - chez l'adulte : 2 ampoules de Stimu-LH 50 soit 100 µg
 - chez l'enfant : 100 µg/m² de surface corporelle.
- T+15, T+30, T+60 minutes (éventuellement à T+90, T+120, T+180 et T+240 minutes lors de certains retards pubertaires et sur prescription médicale) : prélèvement.

RESULTATS

On observe une élévation rapide et ample de la concentration plasmatique de LH, maximum à 30 minutes, et une augmentation plus faible et retardée de FSH, maximum à 60 minutes.

Les réponses sont très variables d'un individu à l'autre.

La stimulation de la FSH induite par la LHRH peut même être totalement absente chez des sujets normaux. Les résultats doivent être interprétés en fonction de l'âge, les enfants prépubères ayant une réponse plus faible que les adultes. La réponse varie aussi en fonction du cycle menstruel : la réponse est modérée en phase folliculaire, et explosive en préovulatoire : pour des raisons de standardisation, il faut donc pratiquer ce test en début de cycle.

	FSH	LH	Interprétation
Niveau de base Réactivité femme Réactivité homme	normal 50 à 100 % 50 à 100 %	normal 150 à 500 % 150 à 250 %	Réponse normale
Niveau de base Réactivité femme Réactivité homme	augmenté >200 % >150 %	augmenté >500 % >300 %	Insuffisance ovarienne Insuffisance testiculaire
Niveau de base Réactivité	diminué <50 %	diminué <100 %	Insuffisance hypophysaire ou hypothalamique
Niveau de base Réactivité femme	normal ou augmenté normale ou légèrement augmentée	augmenté >60 UI	Dystrophie ovarienne de type I
Niveau de base Réactivité femme	normal normale	normal subnormale ample et retardé	Dystrophie ovarienne de type II atteinte hypothalamique

Test au TRH

PRINCIPE

La Thyrotropine Releasing Hormone (TRH) ou Thyrotropin Releasing Factor (TRF) est un tripeptide sécrété par l'hypothalamus. La TRH stimule la synthèse et la sécrétion de la thyrostimuline (TSH) par les cellules thyrotropes de l'antéhypophyse. Elle se fixe également sur les cellules productrices de prolactine et dans certaines tumeurs, sur les cellules productrices d'hormone de croissance.

Le test à la TRH est un test de stimulation utilisé dans l'exploration de l'axe hypothalamo-hypophysio-thyroïdien : dysthyroïdies (dosage de TSH), hyperprolactinémies (dosage de prolactine).

Produit administré au patient : Ampoule de TRH commandée direct au labo Ferring par Depolabo ARRAS fax 0321 60 97 11. Ampoule achetée à la pharmacie de l'hôpital.

Condition initiale du patient

- Pour la TSH : non à jeun mais au repos depuis 30 minutes.
- Pour les autres dosages : sujet à jeun depuis 12 heures, n'ayant absorbé ni thé ni café et au repos depuis 30 minutes.
- prévenir le patient de la durée de l'épreuve (idéalement cette information doit être donnée soit à la prise de rendez-vous, soit avant l'enregistrement du dossier).
- prévenir le patient des éventuels effets secondaires du produit injecté : céphalées, nausées, vertiges, miction impérieuse en précisant que ces phénomènes sont très passagers et non systématiques.

PROTOCOLE

NB : en pratique suivre la prescription,

sinon faire les temps **T0, T+15, T+30 pour la TSH,**

T0, T+15, T+30 et T+60 pour la prolactine

T = 0 : prélèvement d'un tube sec puis injection intraveineuse lente (2minutes) de **250 µg de STIMU-TSH chez l'adulte (1 ampoule) et de 200 µg / m² de surface corporelle chez l'enfant** (voir tables de DU BOIS).

T+15, T+30 minutes ; éventuellement à T+60, T+90 et T+120 minutes sur prescription médicale : prélèvement d'un tube sec.

RESULTATS

Exploration des dysthyroïdies

L'amplitude de la réponse de la TSH traduit l'importance des réserves hypophysaires mobilisables de TSH, qui sont fonction du degré d'inhibition hypophysaire exercée par les hormones thyroïdiennes suivant le principe du rétrocontrôle :

- la réponse normale est maximale 15 minutes après l'injection de TRH ; l'amplitude de la réponse en TSH est comprise entre 5 et 20 mU/l.
- la réponse est supprimée dans l'hyperthyroïdie ou dans l'insuffisance hypophysaire totale (syndrome de Sheehan, tumeur extensive ...).
- dans les hypertyroïdies à TSH élevée, la réponse est le plus souvent négative en cas d'adénome autonome, mais normale dans les syndromes non tumoraux de sécrétion inappropriée de TSH.
- Une réponse ample et prolongée suggère l'existence d'une lésion hypothalamique.
- dans l'hypothyroïdie primitive, la réponse est exagérée, supérieure à 20 mU/l.
- Interférences : la réponse en TSH est émoussée par les corticoïdes, la dopamine, les anti-sérotinergiques. Elle peut être absente au cours de la psychose maniaco-dépressive ou chez la personne âgée et exagérée dans diverses affections telles que la cirrhose, l'insuffisance rénale.

Exploration des hyperprolactinémies

La TRH exerce un effet biphasique avec tout d'abord libération de la prolactine, préformée et stockée, puis secondairement stimulation de la synthèse de prolactine. La sécrétion de prolactine étant très sensible au stress, il est recommandé d'effectuer 2 prélèvements avant l'administration de la TRH (T-15 et T0).

Le taux de prolactine est maximal à 15 mn (augmentation d'au moins 100 % du taux de base). La réponse est plus importante chez la femme que chez l'homme en fonction de l'imprégnation oestrogénique, mais ne dépasse pas en général 100 ng/ml pour la femme et 50 ng/ml pour l'homme.

- la réponse est insuffisante lors d'hyperthyroïdie, d'insuffisance hypophysaire, de certaines dépressions.
- la réponse est absente ou paradoxale, associée à une hyperprolactinémie dans 95% des prolactinomes. Ce test reste utile dans le cas d'imagerie douteuse.
- une réponse exagérée est observée dans les hyperprolactinémies fonctionnelles, l'hypothyroïdie fonctionnelle, la cirrhose, l'insuffisance rénale
- une réponse normale lors des tests n'exclut pas formellement la présence de prolactinomes, mais la rend peu vraisemblable.
- Sur le plan pratique, les tests dynamiques sont utiles si la PRL > 250 ng/ml (on se trouve avec quasi certitude dans le domaine de prolactinome).

Test au PRIMPERAN**PRINCIPE**

Stimulation de l'hypophyse par la thyrolibérine ou TRH et par la métoclopramide. Il permet d'évaluer la réponse hypophysaire en prolactine sous TRH puis l'effet d'un antagoniste de la dopamine sur la libération de prolactine.

Produit administré au patient : Injection de Pimpéran (métoclopramide) ampoule de 10mg pour IV (apportée par le patient)



NB : si le test prescrit est « test au TRH-métoclopramide », injection de Pimpéran 60'après injection de TRH (T60=T0) – **cf. livret laboratoire spécialisé**

Condition initiale du patient

Sujet à jeun et au repos depuis 30 min.

PROTOCOLE

Prélèvements (tubes secs) aux temps -15 min (T-15) et 0 (T0).

Prélèvements (tubes secs) aux temps T+15, T+30 et T+60 min après injection de TRH.

Après le prélèvement du temps T+60, injecter, par voie intraveineuse lente, une ampoule de Pimpéran® (10 mg).

Prélèvements (tube sec) au temps T+75, T+90 et T+120 min après injection de TRH.

RESULTATS

1) Le taux basal de prolactine oriente fortement le diagnostic :

< à 70 µg/l, il s'agit le plus souvent d'une hyperprolactinémie fonctionnelle,

> à 150 µg/l, il s'agit presque toujours d'une hyperprolactinémie adénomateuse.

2) L'exploration dynamique de la prolactine : met en jeu les deux systèmes principaux qui contrôlent la sécrétion-libération de l'hormone : la TRH avec son effet stimulant, la dopamine avec son effet inhibiteur.

Pour l'interprétation, les paramètres suivants sont étudiés :

- La valeur absolue de la prolactine en base (µg/l).

- L'augmentation relative de la prolactine : (valeur du pic - valeur de base) x 100 / valeur de base.

- Le delta de prolactine = valeur du pic - valeur de base.

Le T 60 du TRH est considéré comme la base permettant d'apprécier la réponse au MCP.

La réponse au test est considérée soit :

nulle si l'augmentation est inférieure à 100 %,

faible si l'augmentation est comprise entre 100 et 300 %,

positive si l'augmentation est supérieure à 300 %.

CNBH. Protocoles d'explorations en biochimie. Octobre 2001. Version 2.