



Protocoles d'explorations

I – OBJET :

Ce mode opératoire décrit les différentes étapes à suivre pour réaliser les prélèvements sanguins en fonction des tests à réaliser. Il s'applique à l'ensemble des prélèvements sanguins réalisés sous la responsabilité du laboratoire.

II – DOMAINE D'APPLICATION :

Ce mode opératoire concerne tout le personnel du laboratoire habilité à effectuer les tests dynamiques (avec ou sans injection) cf procédure de prélèvement C1/P-LAB-001.

La pédiatrie applique ses propres protocoles.

Ce mode opératoire n'est applicable qu'aux patients adultes, les enfants étant redirigés vers la pédiatrie.

III – DEFINITIONS / ABREVIATION :

Néant

IV – DOCUMENTS DE REFERENCE :

Protocoles d'explorations en biochimie (Collège National de Biochimie des hôpitaux) en ligne sur explorationbiochimie.free.fr.

Références du Comité d'experts du diabète sucré, Diabète Care 1997 ;20 ;1183-97

OMS, définition, Diagnosis and classification of diabètes mellitus and its complications ? Part1 :

Diagnosis and Classification of diabetes mellitus. Report of WHO consultation, Geneva, WHO, 1999.

International association of diabets and pregnancy study groups recommandations on diagnosis and classification of hyperglycemia in pregnancy. Diabetes Care 33: 676-682, 2010

http://www.cngof.asso.fr/D_TELE/RPC_DIABETE_2010.pdf



V – CONTENU :

Avant de commencer tout test, il faut :

Vérifier l'identité du patient (nom, prénom, date de naissance) et la concordance avec la prescription et les étiquettes.

S'assurer de la conformité des conditions de prélèvement (jeûne, dernière prise de médicament, période de repos, date des dernières règles,...)

Recueillir les renseignements cliniques et thérapeutiques nécessaires.

Se laver les mains.

Mettre des gants.

Vérifier le type et le nombre de tubes et bien identifier les différents temps sur les tubes.

SOMMAIRE

Tests de tolérance au glucose (diabétologie)	p 3
Glycémie à jeun et post prandiale	p 3
Hyperglycémie provoquée par voie orale	p 4
Hyperglycémie provoquée : diagnostic du diabète gestationnel	p 6
Test d'exploration surrénale : test au SYNACTHENE®	p 7
Test d'exploration de la fonction gonadotrope	
Test à la LH RH	p 8
Prolactine	p 9
Test d'exploration thyroïdienne : test à la TRH.	p 10
Test au xylose (gastroentérologie)	p 11
Exploration du système Aldostérone - Rénine	p 12



Test de tolérance au glucose (diabétologie)

Glycémie à jeun et post prandiale

Principe : Ce test permet la recherche de diabète et de pré diabète.

Matériel : 2 tubes à fluorure de sodium (bouchon gris).

Condition: Sujet à jeun depuis 8 H et au plus 14 H. Ni thé, ni café, ni tabac, ni chewing-gum
Possibilité de boire un verre d'eau.

Réalisation :

- ① Prélever un tube à fluorure de sodium (bouchon gris) pour la glycémie du patient à jeun.
- ② Identifier / Etiqueter immédiatement le tube.
- ③ Prélever un deuxième tube à fluorure (bouchon gris) pour la glycémie 2 h après le début d'un déjeuner ou d'un petit déjeuner riche en sucre.
- ④ Identifier / Etiqueter immédiatement les tubes.

Attention : en cas de prescription isolée d'une glycémie post charge, une glycémie à jeun doit également être réalisée

Valeurs de référence :

Glycémie à jeun : 3.85 mmol/l à 6.1 mmol/l (0.7 à 1.10 g/l)

Glycémie post prandiale : < 7.7 mmol/l (1.40 g/l)



Hyperglycémie provoquée par voie orale

Principe : Etude de la tolérance du patient à une charge orale en glucose, en vue de rechercher un diabète sucré, par le dosage des glycémies à jeun et 2 heures après l'ingestion.
Ce test n'est pas utile dans la majorité des cas pour faire un diagnostic de diabète de type 2, car la découverte de 2 glycémies à jeun >7 mmol/l (1.26 g/L) est suffisante pour faire le diagnostic. Il peut être utile dans certains cas d'hyperglycémies douteuses ou en épidémiologie.
Test réalisé sur rendez-vous au laboratoire.

Matériel :

Solution pour perfusion GLUCOSE 30% LAVOISIER (1 flacon de 250 ml réfrigéré)
2 tubes fluorés (bouchon gris)
Flacon de recueil des urines au début du test (si précisé sur l'ordonnance)
Flacon de 2 L pour le recueil des urines au cours du test (si précisé sur l'ordonnance)

Condition :

Apport normo-glucidique d'au moins 150 gr d'hydrates de carbone (OMS) dans les 3 jours précédant le test.
Sujet à jeun depuis 8h et au plus 14h : ni thé, ni café, ni tabac ni chewing-gum
Epreuve effectuée exclusivement le matin
Possibilité de boire un verre d'eau.
Le patient doit rester au repos strict, s'abstenir de fumer et rester sans s'alimenter durant le test.

Réalisation :

- ① Prélever un tube à fluorure (bouchon gris) pour la glycémie du patient à jeun (T0). Recueillir éventuellement les urines pour la glycosurie (seulement si précisée sur l'ordonnance).
- ② Identifier et étiqueter immédiatement le tube et l'éventuel flacon d'urine.
- ③ En parallèle réaliser un dosage de glycémie à jeun avec le lecteur de glycémie. Si le résultat est supérieur à 1.26 g/L, ne pas réaliser l'hyperglycémie provoquée, prélever un tube à fluorure pour mesure de la glycémie pour confirmation du résultat par le laboratoire. Transmettre l'information au biologiste et saisir un commentaire dans le dossier du patient (Glims)
- ④ Le patient ingère tout le contenu du flacon de 250 ml de glucose 30% LAVOISIER (réfrigéré) en moins de 5 min.
- ⑤ Prélever ensuite un tube à fluorure (bouchon gris) pour la glycémie aux différents temps prescrits sur l'ordonnance. Si aucun temps n'est précisé sur l'ordonnance, prélever au temps 120 min (T120).

L'épreuve peut être poursuivie sur 5 H uniquement si l'ordonnance le précise.

Attention : Si le patient fait un malaise, voir la fiche d'instruction « Conduite à tenir en cas d'incident ou d'accident survenant au cours du prélèvement » V2b/FI-LAB-05

- ⑥ Les urines sont recueillies pendant la durée de l'épreuve pour une recherche de glycosurie (uniquement si prescrit sur l'ordonnance).
- ⑦ Identifier et étiqueter au fur et à mesure les tubes et les éventuels flacons d'urine et indiquer la dose de glucose ingérée sur les tubes.



Valeurs de référence :

Glycémies	Valeurs de référence
Glycémie à jeun	< 6.1 mmol/l (< 1.10 g/l)
Glycémie à 120 min	< 7.7 mmol/l (< 1.40 g/l)

Résultats :

Diagnostic du diabète : critères proposés par l'OMS depuis 1999

Symptômes cliniques de diabète (polyurie, polydipsie...) associés

- à une glycémie supérieure ou égale à 11.1 mmol/L (2 g/L) à tout moment de la journée ou
- à une glycémie à jeun supérieure ou égale à 7 mmol/L (1.26g/l) (en absence de prise alimentaire depuis 8 heures)
- à une glycémie supérieure ou égale à 11.1 mmol/L (2g/L) à la deuxième heure d'une HGPO standard OMS

Classification OMS

	Glycémie à T0			Glycémie à T 120	
	g/L	mmol/L		g/L	mmol/L
Sujets normaux	<1.10	<6.1	et	<1.40	<7.8
Intolérance au glucose	<1.26	<7.0	et	1.4 à 2.0	7.8 à 11.1
Impaired fasting glucose	1.10 à 1.26	6.1 à 7.0	et	<1.40	<7.8
Diabète sucré	>= à 1.26	>=à7.0	ou	>= à 2.0	>= à 11.1

Etant donné les faibles spécificité et sensibilité de l'HGPO, il convient d'interpréter avec prudence les résultats et renouveler le test si nécessaire.



Hyperglycémie provoquée : Diagnostic du Diabète gestationnel

Principe : Ce test de charge orale en glucose est réalisé en vue de diagnostiquer un diabète gestationnel par le dosage des glycémies à jeun, à 1 heure et 2 heures après l'ingestion de glucose.
Ce test est recommandé par le Collège National des gynécologues et obstétriciens et par la Société Francophone de Diabète pour le diagnostic du diabète gestationnel.
L'examen doit se faire entre la 24^{ème} et 28^{ème} semaine d'aménorrhée.
Test réalisé sur rendez-vous au laboratoire.

Matériel :

Solution pour perfusion de glucose 30% Lavoisier (1 flacon de 250 ml réfrigéré)
3 tubes à fluorure de sodium (bouchon gris).
Flacon pour le recueil des urines au début du test (si précisé sur l'ordonnance)
Flacon de 2 L pour le recueil des urines au cours du test (si précisé sur l'ordonnance)

Condition : Ce test s'adresse aux femmes enceintes avec une glycémie à jeun inférieure à 0.92 g/L lors de la première visite de consultation obstétricale possédant un des critères suivants :

- âge > à 35 ans,
- IMC > 25 kg/m²
- antécédents de diabète chez les apparentés au 1^{er} degré
- antécédents personnels de diabète gestationnel ou d'enfant macrosome.

Sujet à jeun depuis 8H et au plus 14H. Ni thé, ni café, ni tabac, ni chewing-gum
La patiente doit rester au repos et s'abstenir de fumer ou de manger pendant le test.
Ce test doit être exclusivement effectué le matin.
Possibilité de boire un verre d'eau.
Le test n'est pas interprétable si la patiente n'a pas supporté l'ingestion du glucose (vomissements) ou si elle s'est alimentée pendant l'épreuve.

Réalisation :

① Prélever un tube à fluorure de Na (bouchon gris) pour la glycémie lorsque la patiente est à jeun. (T 0)
En parallèle réaliser un dosage de glycémie à jeun sur le lecteur Stat Strip Xpress de NOVA. Si le résultat est > 1.26 g/L, ne pas réaliser l'hyperglycémie provoquée et transmettre un prélèvement veineux sur tube à fluorure en biochimie pour confirmation du résultat. En informer le biologiste et le noter en commentaire dans glims.

Recueillir éventuellement les urines pour la glycosurie (seulement si précisé sur l'ordonnance).

② Identifier et étiqueter immédiatement le tube et l'éventuel flacon d'urine.

③ La patiente ingère tout le contenu du flacon de 250 ml réfrigéré en moins de 5 minutes.

④ Prélever ensuite un tube fluoré (bouchon gris) pour la glycémie à **T 60 min** et **T 120 min**.

Attention : Si la patiente fait un malaise, voir la fiche d'instruction « Conduite à tenir en cas d'incident ou d'accident survenant au cours du prélèvement » V2b/FI-LAB-05

⑤ Identifier et étiqueter au fur et à mesure les tubes et les éventuels flacons d'urine et indiquer la dose de glucose ingérée sur les tubes



Valeurs de référence :

Glycémies	Normales
Glycémie à jeun	< 5.10 mmol/l (< 0.92 g/l)
Glycémie à 60 min	< 10 mmol/l (< 1.80 g/l)
Glycémie à 120 min	< 8.50 mmol/l (< 1.53 g/l)

L'épreuve d'HGPO est considérée positive si seulement une seule valeur atteint les seuils fixés.



Test d'exploration surrénale

Test au synacthène court

Principe : Etude de la stimulation de la capacité sécrétoire de la corticosurrénale après injection de synacthène par dosage du cortisol à différents temps. Examen sur rendez-vous au laboratoire.

Matériel : Cathéter
1 ampoule de synacthène immédiat à 0.25 mg/ml (fournie par la pharmacie).
3 tubes secs (bouchon jaune).
Appareil à tension.

Condition : Sujet à jeun depuis 12 H : ni thé, ni café, ni tabac ni chewing-gum.
Si le patient est traité par de l'hydrocortisone le matin, il ne doit pas prendre ce médicament
Possibilité de boire un verre d'eau.
Le patient doit rester au repos pendant l'épreuve.
Ce test doit débuter à **8h00** du matin au laboratoire.
Effectuer l'injection en IV.
Surveiller le patient et sa tension artérielle. Noter l'élévation de la tension artérielle le cas échéant

Réalisation :

- ① Poser un cathéter 15 à 30 min avant de commencer le test (pour éviter le stress dû à la piqûre).
- ② Prélever un tube sec (bouchon jaune) pour le cortisol (**T 0**).
- ③ Identifier / Etiqueter immédiatement le tube.
- ④ Contrôler la tension artérielle puis injecter en IV le synacthène :
Chez l'adulte : 0.25 mg soit une ampoule 1 ml de synactène immédiat à 0.25 mg/ml
Chez l'enfant : protocole réalisé en pédiatrie.
- ⑤ Prélever ensuite un tube sec (bouchon jaune) pour le cortisol aux différents temps prescrits sur l'ordonnance. Si aucun temps n'est précisé sur l'ordonnance, prélever aux temps 30 min (**T 30'**) et 60 min (**T 60'**).
- ⑥ Identifier / Etiqueter les tubes au fur et à mesure et y indiquer la dose de synacthène injectée.
- ⑦ Surveiller le patient et sa tension artérielle à chaque prélèvement (T 30' et T 60')

N.B. : Si d'autres analyses sont demandées (ex : 11 désoxycortisol), vérifier les conditions de prélèvement dans le guide des prélèvements (INTRANET).

Réponse normale :

Chez l'adulte : **Cortisol à 30 min** : > ou = à 180 ng/ml
Cortisol à 60 min : > ou = à 210 ng/ml



Résultats :

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 surrénaliennes 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 surrénalienne.

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



Test d'exploration de la fonction gonadotrope

Test à la LH-RH

Principe : Exploration de la fonction sécrétoire de l'hypophyse gonadotrope chez la femme ou chez l'homme. Cette épreuve permet de tester rapidement la réserve hypophysaire en LH et FSH excrétée dans le sang sous l'action de la LH-RH ou GnRH (gonadoréline). Examen sur rendez-vous au laboratoire.

Matériel :

Cathéter
2 ampoules Stimu-LH à 50 µg/ml ou 1 ampoule à 100 µg/ml
6 tubes secs (bouchon jaune)

Condition: Sujet à jeun depuis 12 H et au repos depuis 30 min. Le sujet doit rester allongé.
Chez la femme réglée : pratiquer le test en début de phase folliculaire (J2 à J5 du cycle).
A n'importe quelle date chez la femme en aménorrhée.
Ce test doit débuter entre 8h30 et 10h du matin.
Ce test est contre indiqué chez la femme enceinte.

Réalisation :

- ① Poser un cathéter avant de commencer le test.
- ② Prélever un tube sec (bouchon jaune) pour la FSH et/ou LH au temps – 15 min (**T -15'**).
- ③ Identifier / Etiqueter immédiatement le tube.
- ④ Prélever un tube sec (bouchon jaune) pour la FSH et/ou LH au temps 0 (**T 0**).
- ⑤ Identifier / Etiqueter immédiatement le tube.
- ⑥ Injecter rapidement en intra veineuse la gonadoréline (fournie par la pharmacie) :
Chez l'adulte : 100 µg soit 2 ampoules de 1 ml de Stimu – LH® à 50 µg/ml
Chez l'enfant : protocole réalisé en pédiatrie
- ⑦ Prélever ensuite un tube sec (bouchon jaune) pour la FSH et/ou la LH aux différents temps prescrits sur l'ordonnance. Si aucun temps n'est précisé sur l'ordonnance, prélever aux temps :
 - 30 min (**T 30'**),
 - 60 min (**T 60'**),
 - 90 min (**T 90'**),
 - 120 min (**T 120'**)
- ⑧ Identifier / Etiqueter les tubes au fur et à mesure et y indiquer la dose de gonadoréline injectée.



Réponse attendue :

Chez l'adulte :

Augmentation maximale de la LH entre la 15^{ème} et la 30^{ème} mn de 2 à 5 fois du taux de base.

Augmentation maximale de la FSH entre la 30^{ème} et la 60^{ème} mn de 2 à 3 fois du taux de base.

Remarque : La prescription peut également mentionner l'estradiol, la prolactine, testostérone, SDHEA, δ 4 androsténedione, 17OH progestérone (J2 à J5 du cycle).



Prolactine

Principe : Dépistage d'un dysfonctionnement gonadique associé à une hyperprolactinémie.

Examen réalisé de préférence sur rendez-vous au laboratoire.

Matériel : Gants à usage unique
Cathéter (pose non obligatoire)
1 tube sec (bouchon jaune)

Condition : Le patient doit rester au repos strict allongé durant 30 minutes.
Ne pas prélever dans les heures qui suivent un examen des seins et un exercice physique intense.
Des renseignements cliniques doivent être fournis : date des dernières règles, prise éventuelle de médicaments.
Si la prescription comporte des examens variant avec le cycle menstruel, le prélèvement doit être fait entre J2 et J5 (idéalement à J3).

Réalisation :

- ① Après la pose (éventuelle) du cathéter et le repos allongé de 30 minutes, prélever un tube sec (bouchon jaune)
- ② Identifier et étiqueter immédiatement le tube.

Valeurs de référence :

Femme en période d'activité génitale :	2.2 à 30.3 ng/ml
Femme enceinte	8.1 à 347.6 ng/ml
Femme ménopausée :	0.7 à 31.5 ng/ml
Homme :	2.5 à 17.4 ng/ml



Test d'exploration thyroïdienne

Test à la TRH long

Principe : L'hormone hypothalamique TRH (protireline) est un peptide sécrété par l'hypothalamus qui stimule la sécrétion de TSH et de prolactine par l'antéhypophyse. La TRH exerce un effet biphasique sur la libération de prolactine : d'abord libération de prolactine préformée et stockée puis stimulation de la synthèse de prolactine. Le test est utile en cas d'imagerie douteuse.

Test réalisé sur rendez-vous au laboratoire

Matériel : Cathéter
6 tubes secs (bouchon jaune)
1 ampoule TRH Ferring à 0.2 mg/ml

Condition : Sujet à jeun depuis 12 H n'ayant absorbé ni thé ni café ni chewing-gum étendu depuis 30 min.
Supprimer pendant les 24 dernières heures tout tranquillisant (interaction sur la prolactine).
Contre- indication : grossesse, infarctus du myocarde en phase aigüe, épilepsie, agoniste dopaminergique.

Réalisation :

- ① Poser un cathéter avant de commencer le test et attendre 10 min avant de commencer le prélèvement.
- ② Prélever un tube sec (bouchon jaune) pour la prolactine et/ou TSH au temps – 15 min (**T -15'**).
- ③ Identifier / Etiqueter immédiatement le tube.
- ④ Prélever un tube sec (bouchon jaune) pour la prolactine et/ou TSH au temps 0 (**T 0**).
- ⑤ Identifier / Etiqueter immédiatement le tube.
- ⑥ Injecter lentement (1 à 2 min) en intra veineuse la protireline (fournie par la pharmacie) :
Chez l'adulte : 200 µg soit 1 ampoule de 1 ml de TRH Ferring à 0.2 mg/ml
Chez l'enfant : protocole réalisé par la pédiatrie
- ⑦ Prélever ensuite un tube sec (bouchon jaune) pour la prolactine et/ou TSH aux différents temps prescrits sur l'ordonnance. Si aucun temps n'est précisé sur l'ordonnance, prélever aux temps :
T 30 min (**T30'**)
T 60 min (**T60'**)
T 90 min (**T90'**)
T 120 min (**T120'**)
- ⑧ Identifier / Etiqueter les tubes au fur et à mesure et y indiquer la dose de protireline injectée.

Remarque :

Ce test peut être effectué sur un temps plus court, soit avec des prélèvements à 0 et 30 min (= TRH court)



Réponse attendue :

Pour la TSH :

Le taux maximal est atteint 20 à 30 min après l'injection de TRH.

Le taux doit être au moins égal à 2 mUI/l (μ UI/ml) et ne doit pas dépasser 18mUI/l (μ UI/ml)

Pour la prolactine :

Le taux maximal est atteint 15 à 30 min après l'injection de TRH.

Le taux doit être :

< 50 ng/ml chez l'homme

< 100 ng/ml chez la femme en période d'activité génitale.



Test au xylose (gastroentérologie)

Principe : Dépistage des états de malabsorption intestinale.
Le D xylose est un pentose de poids moléculaire 150. Il est absorbé dans le duodénum et la partie initiale du jéjunum. Il n'est pas métabolisé chez l'homme.
Test réalisé uniquement sur RV et compter 2 semaines d'attente

Matériel : Gants à usage unique
2 tubes secs (bouchon jaune)
D xylose en poudre (boîte de 25 g fournie par la pharmacie) et à commander au moment de la prise du rendez-vous

Condition : Sujet à jeun depuis 12 H avec la possibilité de boire de l'eau. Repos pendant l'épreuve.
Ce test est ininterprétable si le patient a vomi ou s'est alimenté pendant l'épreuve.
Ne pas pratiquer en cas de diarrhée.

Réalisation :

- ① Prélever un tube sec (bouchon jaune) pour le dosage du xylose lorsque le patient est à jeun (**T₀**).
- ② Identifier / Etiqueter immédiatement le tube.
- ③ Le patient ingère le xylose dilué dans de l'eau.
Chez l'adulte : 25 g de xylose dans 250 ml d'eau.
Chez l'enfant : protocole réalisé en pédiatrie.
- ④ Prélever ensuite un tube sec (bouchon jaune) pour le dosage du xylose aux différents temps prescrits sur l'ordonnance. Si aucun temps n'est précisé sur l'ordonnance, prélever 2 heures (**T 120**) après l'ingestion de xylose (pour l'adulte).
- ⑤ Identifier / Etiqueter les tubes au fur et à mesure et y indiquer la dose de xylose ingéré.

Réponse attendue :

Chez l'adulte : 1330 à 3330 $\mu\text{mol/l}$ **2 heures** après l'ingestion de xylose



Exploration du système Aldostérone - Rénine (debout – couché)

Principe : Dosages de l'aldostérone et de la rénine chez un patient en position debout et couché

Matériel : Gants à usage unique
2 tubes EDTA (bouchon violet)

Condition: Sujet à jeun depuis 12 H.
Prévenir le patient qu'il doit déambuler 1 heure avant le prélèvement.
Le prévenir également qu'il doit rester 1 H au laboratoire.
Le prélèvement doit être réalisé à 8H00 pour l'aldostérone et la rénine debout.

Réalisation :

- ① Le patient déambule pendant 1 H avant le prélèvement.
- ② A 8H00, prélever un tube EDTA (bouchon violet) pour le dosage de l'aldostérone et un tube EDTA (bouchon violet) pour le dosage de la rénine.
- ③ Identifier / Etiqueter immédiatement les tubes.
- ④ Aliter le patient dans la chambre du laboratoire pendant 1 H ; soit de 8H00 à 9H00.
- ⑤ Prélever à 9H00 un tube EDTA (bouchon violet) pour le dosage de l'aldostérone et un tube EDTA (bouchon violet) pour le dosage de la rénine.
- ⑥ Identifier / Etiqueter immédiatement les tubes.

Remarque :

Dans le cas d'une demande isolée d'aldostérone et de rénine debout, prévenir le patient de déambuler pendant 1H avant son arrivée au laboratoire à 8H00 (prise de rendez-vous nécessaire avec tolérance de 8H00 à 10H).

En l'absence de précision couché / debout sur la prescription, prélever le patient **après être resté en position assise pendant 10 minutes.**

Les résultats de l'aldostérone sont interprétables dans le cas d'un régime normosodé.
Préciser si le patient a un traitement anti hypertenseur et/ou un contraceptif oral.
Pour la rénine : interprétation des résultats en tenant compte des traitements antidiurétiques, anti hypertenseurs et IEC.