

CAHIER DE

# Formation

N° 24

Biologie médicale

Janvier 2002

**BIOCHIMIE PÉDIATRIQUE**



CAHIER DE

# Formation

## Biologie médicale



Ceci est la VERSION NUMERIQUE des CAHIERS BIOFORMA déjà parus et distribués à l'ensemble des LABORATOIRES D'ANALYSES de BIOLOGIE MEDICALE en FRANCE.

]

TOUT LE CONTENU DE CE FICHER RESTE LA PROPRIETE DE BIOFORMA.  
LES DROITS D'AUTEURS SONT PROTEGES A LA B.N.F.

]

Toute reproduction, toute utilisation, partielle ou totale, des textes, schémas et photos de cet ouvrage, sans l'autorisation écrite de BIOFORMA, seront poursuivies devant les tribunaux compétents.

]

Seule une impression pour une copie personnelle ( étudiant, interne, biologiste de labm ) est permise.





Cher Confrère,

Les examens prescrits en pratique pré-natale ou post natale sur des foetus, prématurés, nourrissons, jeunes enfants sont toujours pour le biologiste le moment d'une épreuve émotionnelle particulière et l'instant de la mise en œuvre de techniques très fines d'analyse souvent demandées en urgence.

Tout commence par le prélèvement dont on sait les difficultés et le rôle crucial qu'il aura sur la qualité de l'analyse puis par le respect strict de conditions de transport souvent draconiennes qui sont, elles aussi, des déterminants majeurs du résultat.

Le Cahier de Formation que nous vous présentons ci-après, rédigé par des biologistes et des cliniciens de haut niveau, reconnus dans leur discipline, se propose de vous apporter une revue des récentes avancées des connaissances en la matière.

De l'étiologie des pathologies à leurs mécanismes biochimiques et à leur traduction en termes de souffrances physiques et cliniques que, le plus souvent les enfants ne peuvent décrire, les chapitres de ce cahier déroulent la passionnante histoire de la lutte pour la survie qui est au cœur de la vocation de tous ceux qui ont choisi notre métier.

En liaison étroite et indispensable avec le pédiatre, le Directeur de Laboratoire d'Analyse est ainsi au centre de la démarche diagnostique ; il conduit pour sa part la recherche des informations biochimiques qui guideront le réanimateur et/ou le clinicien dans la formulation et l'application de thérapies fines et constamment contrôlées.

C'est au sens strict du terme un document de formation, un outil de travail, une source inépuisable de savoir nécessaire à notre pratique quotidienne.

Nous vous souhaitons une bonne réception de cet ouvrage et espérons que sa qualité scientifique répondra à vos attentes.

Nous vous prions d'agréer, Cher Confrère, nos cordiales et confraternelles salutations.

Adrien BEDOSSA  
Président

# BIOCHIMIE PÉDIATRIQUE

CAHIER **BIOFORMA**  
DE  
**Formation**  
version numérique

Pierre Kamoun  
avec la collaboration de :

Raja Brauner, François Feillet,  
Jean-Jacques Robert, Jean-Claude Souberbielle,  
Guy Touati, Christine Trivin

# LISTE DES RÉDACTEURS

---

- Raja Brauner  
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier -  
Hôpital des Enfants Malades - Paris
  
- François Feillet  
Praticien Hospitalier - Hôpital d'enfants de Brabois -  
Nancy
  
- Pierre Kamoun  
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier -  
Hôpital des Enfants Malades - Paris
  
- Jean-Jacques Robert  
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier -  
Hôpital des Enfants Malades - Paris
  
- Jean-Claude Souberbielle  
Praticien Hospitalier - Hôpital des Enfants  
Malades - Paris
  
- Guy Touati  
Praticien Hospitalier - Hôpital des Enfants Malades -  
Paris
  
- Christine Trivin  
Attachée - Hôpital des Enfants Malades - Paris

## ENDOCRINOLOGIE PÉDIATRIQUE

**R. BRAUNER**

I - Croissance et puberté normales .....	09
II - Anomalies de la croissance .....	13
III - Anomalies de la puberté .....	19
IV - Obésité .....	26
V - Pathologie de la thyroïde .....	28
VI - Pathologie des corticosurrénales .....	33
VII - Syndromes polyuro-polydipsiques .....	37

## DOSAGES HORMONAUX

**J.C. SOUBERBIELLE – C. TRIVIN**

I - Examens spécialisés dans le diagnostic du déficit en GH .....	41
II - Dosages hormonaux dans les anomalies pubertaires .....	45
III - Dosages hormonaux dans l'exploration de l'axe corticotrope .....	49

## DIABÈTE SUCRÉ DE L'ENFANT ET DE L'ADOLESCENT

**J.J. ROBERT**

I - Le diagnostic de diabète .....	54
II - Évaluation de l'état métabolique .....	56
III - Recherche de l'étiologie .....	60
IV - Suivi du traitement .....	62

## BIOCHIMIE ET RÉANIMATION PÉDIATRIQUE

**F. FEILLET**

I - Le ionogramme .....	67
II - L'équilibre acide-base .....	72
III - Les protéines totales .....	74
IV - Les protéines nutritionnelles .....	75

V - Les protéines de l'inflammation .....	76
VI - La glycémie .....	77
VII - La fonction rénale .....	78
VIII - Le bilan phosphocalcique .....	80
IX - Les enzymes plasmatiques .....	82
X - Le bilan hépatique .....	86
XI - L'hémostase .....	90
XII - Les marqueurs d'hémolyse .....	91

## **MALADIES MÉTABOLIQUES**

**G. TOUATI**

I - Orientation du diagnostic d'un coma métabolique .....	93
II - Orientation du diagnostic d'une acidose métabolique .....	93
III - Orientation du diagnostic d'un état de cétose .....	97
IV - Orientation du diagnostic d'une hypoglycémie .....	98
V - Orientation du diagnostic d'une hyperlactacidémie isolée .....	102
VI - Orientation du diagnostic d'une hyperammoniémie .....	106

## **MALADIES HÉRÉDITAIRES DU MÉTABOLISME : LES EXAMENS SPÉCIALISÉS**

**P. KAMOUN**

I - Les tests rapides de dépistage .....	109
II - Les examens spécialisés de diagnostic .....	109
III - Les examens spécialisés de confirmation .....	116

**CAHIER DE BIOFORMA**  
**Formation**  
version numérique

# PRÉFACE

---

La biochimie pédiatrique se caractérise plus par le type de prescription médicale que par la nature des examens biochimiques pratiqués sauf en ce qui concerne ceux prescrits pour le diagnostic d'une maladie héréditaire, du métabolisme énergétique par exemple. C'est pourquoi plutôt que d'établir un catalogue des examens biochimiques prescrits il m'est apparu intéressant de demander à des cliniciens dans quelles circonstances cliniques ils étaient amenés à prescrire ces examens. Lorsque ceux-ci différaient de ceux pratiqués chez l'adulte, un complément d'information a été demandé à des spécialistes d'explorations fonctionnelles, de biochimie et biologie moléculaire. La rédaction de ce livre est donc le fruit d'une approche clinico-biochimique. On aurait pu sans doute écrire un autre livre, très différent tout en conservant le titre Biochimie pédiatrique. C'est dire si mon choix est discutable et j'espère qu'il sera discuté.

Pierre Kamoun



## ABRÉVIATIONS

---

AA	Acétoacétate
AAS	Acide Argininosuccinique
ADH	Antidivretic hormone
AGI	Acidémie glutarique type I
AGII	Acidémie glutarique type II
AIV	Acidémie isovalérique
AMM	Acidémie méthylmalonique
AP	Acidémie propionique
ASL	Argininosuccinate lyase
CAA	Chromatographie des acides aminés
CAO	Chromatographie des acides organiques
CC	Corps cétoniques
CPS	Carbamyl phosphate synthétase
CPK	Créatine phosphokinase
CRM	Chaîne respiratoire mitochondriale
EEG	Electroencéphalographe
GCMS	Gas chromatography - mass spectrometry (chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse)
GH	Growth hormone (hormone de croissance)
GS	Glycogène synthase
HMGCoA	Hydroxy methyl glutaryl CoA
HHH	Syndrome Triple H (hyperammoniémie, hyperornithinémie, homocitrullinémie)
IGF-1	Insulin-like growth factor-1
L	Lactate
L/P	Rapport lactate/ pyruvate
MCD	Medium chain dehydrogenase
NAGS	N- acétylglutamate
OAG	Oxydation des acides gras
3OHB	3 hydroxybutyrate
OTC	Ornithine transcarbamylase
P	Pyruvate
PC	Pyruvate carboxylase
PDH	Pyruvate deshydrogenase
PEPCK	Phosphoenol pyruvate carboxykinase
SCAD	Short chain acyl CoA dehydrogenase
SCHAD	Short chain hydroxy acyl CoA dehydrogenase
TP	Taux de prothrombin

## I. CROISSANCE ET PUBERTÉ NORMALES

Le suivi de la croissance de la taille, du poids, du périmètre crânien et du développement pubertaire est un élément-clé de la surveillance d'un enfant. Il permet de rassurer l'enfant et sa famille sur l'évolution de son corps et de dépister une anomalie.

### I.1- Croissance

De la naissance à l'âge auquel la taille adulte est atteinte, la croissance peut être divisée en quatre phases, en fonction de la vitesse de croissance et de l'influence prépondérante d'un facteur de croissance donné (Tableau I). Une croissance normale nécessite un système endocrinien (Tableau II) et un squelette normal. Elle est contrôlée par des facteurs génétiques. Elle est liée à l'état nutritionnel. Elle peut être ralentie par certaines anomalies de l'environnement. Les facteurs génétiques interviennent sur la taille et sur l'âge au démarrage de la puberté. Le contrôle génétique de la croissance normale est multifactoriel. On ne sait pas évaluer les influences respectives des facteurs génétiques et d'environnement d'une part, et de chacun des deux parents d'autre part. La taille cible est la taille que devrait avoir l'enfant si n'intervenaient que les facteurs génétiques. Elle est calculée selon la formule [7] :

$$\text{taille cible (cm)} = \frac{\text{taille père (cm)} + \text{taille mère (cm)} + 13 \text{ si garçon} - 13 \text{ si fille}}{2}$$

*Tableau I. Phases de la croissance post-natale*

1. De la naissance à 2-3 ans - Vitesse de croissance très rapide - Diminution de l'influence des facteurs intra-utérins au profit des facteurs génétiques → changements possibles de couloir de croissance
2. Phase prépubère - Vitesse de croissance stable 5-6 cm/an avec souvent ralentissement prépubertaire.
3. Phase pubertaire - Développement des caractères sexuels secondaires - Accélération de la vitesse de croissance staturale qui passe de 5 à 7-9 cm/an Pic à 12 ans fille/14 ans garçon Gain total moyen 24 cm fille /27 cm garçon
4. Indicateurs de fin de croissance Gain statural < 2 cm/an Age osseux > 15 ans fille /16 ans garçon

*Tableau II. Facteurs hormonaux de la croissance post-natale*

<p>1. GH</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Chaîne polypeptidique de 191 résidus d'acides aminés</li> <li>- Synthétisée et sécrétée par cellules somatotropes anté-hypophysaires</li> <li>- Sécrétion pulsatile, essentiellement nocturne, contrôlée par 2 facteurs hypothalamiques :             <ul style="list-style-type: none"> <li>a. GHRH (GH releasing hormone) stimulant</li> <li>b. somatostatine inhibiteur</li> </ul> </li> <li>- Se lie à un récepteur hépatique spécifique pour induire la synthèse de IGF-I</li> </ul>
<p>2. IGF-I</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Facteur essentiel de la croissance post-natale : agit directement sur le cartilage de croissance</li> </ul>
<p>3. Hormones thyroïdiennes</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Action sur la croissance et sur la maturation osseuse</li> </ul>
<p>4. Stéroïdes sexuels : estradiol ou testostérone</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Accélèrent la vitesse de croissance à la puberté par 2 mécanismes :             <ul style="list-style-type: none"> <li>a. augmentation sécrétion GH → / IGF-I</li> <li>b. action directe sur cartilage de croissance</li> </ul> </li> <li>- Soudent les cartilages de croissance</li> </ul>
<p>5. Glucocorticoïdes</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Leur excès inhibe la croissance</li> </ul>

La taille doit être mesurée avec soin par une personne entraînée à le faire et avec un matériel fiable. Le résultat de la mesure est inscrit sur le carnet de santé, ce qui permet de suivre l'évolution de la croissance. Parallèlement sont évalués le poids (rapporté à la taille), le périmètre crânien (rapporté à l'âge) et le stade pubertaire. L'indice de corpulence (body mass index) est le rapport poids (kg) / [taille (m)]<sup>2</sup> ; les normes sont exprimées en fonction de l'âge [5]. La taille moyenne adulte est de 162 cm chez la fille et de 175 cm chez le garçon [6]. Le niveau de taille est exprimé en déviations standards (DS) ou en percentiles. Les tailles de 95 % des enfants bien portants sont entre - 2 et + 2DS. Cela correspond à une taille adulte comprise entre 151 et 174 cm chez les filles et entre 163 et 187 cm chez les garçons. Le niveau de taille est parfois exprimé en percentiles : un percentile donné est la limite en-dessous de laquelle se trouve le pourcentage correspondant de la population normale (3 % des enfants ont une taille en-dessous du 3<sup>e</sup> percentile).

## **I.2- Age osseux**

L'âge osseux correspond pour un individu à l'âge réel de la majorité des individus de son sexe qui ont la même maturation squelettique. Il est évalué par l'étude des points d'ossification des os, sur la radiographie de la main et du poignet gauches de face (un seul cliché) qui est comparée à l'atlas de Greulich et Pyle [2]. Même lu par une personne entraînée à le faire, l'âge osseux reste une approximation. Il permet de calculer la taille prédite. La méthode la plus utilisée est celle de Bayley et Pinneau [1], qui donne pour un

sexe et un âge osseux donnés le pourcentage de taille adulte qu'un individu a déjà pris. Par exemple, une fille qui a des âges chronologique et osseux de 11 ans a pris 90 % de sa taille adulte ; sa taille adulte prédite est sa taille réelle divisée par 0,90. Cependant, il y a une marge d'erreur entre la taille prédite et la taille adulte. Cette marge est d'autant plus grande que l'enfant est plus jeune et que la différence entre les âges chronologique et osseux est grande.

### I.3- Puberté

La puberté est la période de transition entre l'enfance et l'état adulte. Elle s'exprime par un développement des caractères sexuels et par une accélération de la vitesse de croissance staturale. Elle conduit à l'acquisition des fonctions de reproduction. Le démarrage clinique de la puberté résulte d'activations successives (Tableau III), avec des phénomènes de rétrocontrôle entre chacune des étapes [5].

Les caractères sexuels se développent dans 95 % des cas entre 8 et 13 ans (moyenne 11,5 ans) chez la fille et entre 9 et 14 ans (moyenne 12,5 ans) chez le garçon. Chez la fille, le premier signe est le développement d'un bourgeon mammaire (souvent unilatéral au début), accompagné ou suivi de l'apparition d'une pilosité pubienne. L'intervalle moyen entre le début du développement des seins et l'apparition des premières règles est de 2 ans. Chez le garçon, le signe qui indique le démarrage pubertaire est l'augmentation du volume des testicules. Cette augmentation témoigne du développement des tubes séminifères. Ce développement est induit par l'augmentation de la sécrétion hypophysaire de folliculo-stimulating hormone (FSH). Les testicules prépubères mesurent autour de  $2 \times 1$  cm et des dimensions testiculaires supérieures à  $3 \times 2$  cm indiquent une stimulation. La sécrétion de testostérone contribue avec les hormones surrénaliennes (essentiellement sulfate de déhydroépiandrostérone, DHAS) au développement de la pilosité sexuelle ; elle induit une augmentation des dimensions de la verge, des érections et une mue de la voix. Il est fréquent d'observer au cours de la puberté une intumescence mammaire appelée gynécomastie. Elle est parfois douloureuse et le plus souvent transitoire. Les stades du développement pubertaire sont cotés de 1 (stade prépubère) à 5 (stade adulte, 3, 4).

*Tableau III. Étapes de l'activation pubertaire*

Phénomène initiateur mal compris	
1. Gonadarche	
Organe	Hormone
Hypothalamus	/ LHRH ou GnRH
Anté-hypophyse	/ LH et FSH (pic LH > pic FSH)
Développement des gonades	/ estradiol
	/ testostérone
Développement caractères sexuels secondaires	
+ accélération vitesse croissance	
2. Adrenarche : / DHA participe à pilosité sexuelle	

La vitesse de croissance staturale s'accélère à la puberté. La sécrétion de stéroïdes sexuels (estradiol chez la fille et testostérone chez le garçon) induit une augmentation de la sécrétion d'hormone de croissance (GH) et des concentrations plasmatiques d'insulin-like growth factor I (IGF I). Le rôle respectif des augmentations des stéroïdes sexuels, de GH et de IGF I ainsi que leur séquence d'intervention dans la croissance pubertaire ne sont pas totalement compris. Le gain total de taille entre le début clinique de la puberté et la taille adulte dépend en partie de l'âge au démarrage pubertaire : il est d'autant plus grand que la puberté démarre plus tôt. Aussi l'âge au démarrage pubertaire ne modifie pas de manière significative la taille adulte à condition que la puberté démarre au-delà de 9-10 ans chez la fille et de 10-11 ans chez le garçon.

La croissance résiduelle après les premières règles varie de 4 à 13 cm (moyenne 7 cm) et diminue à mesure que l'âge des premières règles augmente. Les courbes de croissance des deux sexes sont superposables jusqu'à l'âge du démarrage pubertaire. La différence de 13 cm au profit des garçons vient essentiellement du fait que la puberté survient plus tard que chez la fille. Ceci laisse aux garçons deux années supplémentaires de croissance.

## RÉFÉRENCES

- 1- BAYLEY N., PINNEAU S.R. Tables for predicting adult height from skeletal age: revised for use of Greulich-Pyle hand standards. *J. Pediatr.* 1952 ; 40 : 432-441.
- 2- GREULICH W.W, PYLE S.I. Radiographic atlas of skeletal development of the hand and the wrist. 2<sup>e</sup> Ed. Stanford Univ. Press ed., Stanford California, 1959.
- 3- MARSHALL W.A, TANNER J.M. Variations in the pattern of pubertal changes in girls. *Arch. Dis. Child.* 1969 ; 44 : 291-303.
- 4- MARSHALL W.A, TANNER J.M. Variations in the pattern of pubertal changes in boys. *Arch. Dis. Child.* 1970 ; 45 : 13-23.
- 5- ÆRTER K.E., URIARTE M.M., ROSE S.R., BARNES K.M., CUTLER G.B. Jr. Gonadotropin secretory dynamics during puberty in normal girls and boys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1990 ; 71 : 1251-1258.
- 6- ROLLAND-CACHERA M.F., COLE T.J., SEMPÉ M., TICHET J., ROSSIGNOL C., CHARRAUD A. Body mass index variations: centiles from birth to 87 years. *Eur. J. Clin. Nutr.* 1991 ; 45 : 13-21.
- 7- SEMPÉ M., PEDRON G., ROY-PERNOT M.P. Auxologie, méthode et séquences. Laboratoires Theraplix ed., Paris, 1979.
- 8- TANNER J.M., GOLDSTEIN H., WHITEHOUSE R.H. Standards for children's height at ages 2-9 years allowing for heights of parents. *Arch. Dis. Child.* 1970 ; 45 : 755-762.

## ■ II. ANOMALIES DE LA CROISSANCE

### ■ II.1- Diagnostic

Pris isolément, le niveau de taille d'un enfant ne permet pas de conclure quant au caractère normal ou non de sa croissance. Il est essentiel de préciser sa vitesse de croissance pour savoir si le niveau de taille résulte d'une croissance régulière ou s'il est secondaire à un changement de couloir de croissance. La courbe de croissance est le document-clé qui permet de savoir si un enfant donné a une croissance anormale. Les éléments qui font rechercher une anomalie sont : 1) un niveau de taille situé en dehors des limites de  $- 2$  et  $+ 2$  déviations standards (DS) ; 2) une discordance entre le niveau de taille de l'enfant (exprimé en DS) et celui de sa taille cible calculée à partir des tailles de ses parents ; 3) surtout une vitesse de croissance anormale pour l'âge, conduisant à un changement de couloir de croissance. Dans les petites tailles, l'évolution du poids est à analyser parallèlement à l'évolution de la taille pour répondre aux questions suivantes : 1) le ralentissement statural s'accompagne-t-il d'un arrêt de la prise de poids ou au contraire de la constitution d'un surpoids ; 2) le ralentissement statural précède-t-il ou au contraire succède-t-il à la modification de l'évolution pondérale ? En effet, lorsqu'une insuffisance de prise pondérale précède le ralentissement statural, cela indique que celui-ci est probablement secondaire à l'insuffisance de prise pondérale et oriente vers un problème nutritionnel. À l'inverse, lorsque le ralentissement statural s'accompagne d'une prise pondérale excessive, cela oriente vers problème hormonal.

Un enfant vu pour une anomalie de la croissance conduit à se poser les questions suivantes : 1) le niveau de taille et la croissance sont-ils réellement anormaux ; 2) en cas d'anomalie, quelle en est la cause ; 3) y-a-t-il une indication à un traitement et, dans ce cas, quels sont l'efficacité et les risques d'effets secondaires de ce traitement ? On peut calculer la prédiction de taille adulte, mais il y a souvent une marge d'erreur importante entre la taille prédite et la taille adulte réelle.

### II.2- Petite taille et/ou vitesse de croissance inférieure à la norme (Tableaux I et II, ref. 3)

#### II.2.1- Petite taille constitutionnelle

La petite taille est le plus souvent (plus de 70 % des cas) de type constitutionnel, appelée aussi génétique, essentielle ou familiale. Les éléments en faveur de ce diagnostic sont : un examen clinique normal et surtout l'existence de petites tailles dans la famille. Le plus souvent, le diagnostic est facile à faire car la vitesse de croissance est normale pour l'âge et le niveau de taille est concordant avec la taille parentale. Ainsi, l'indication à faire une évaluation pour exclure une pathologie peut venir des éléments suivants : importance du déficit statural, doute dans l'esprit de la famille ou du médecin traitant sur l'existence d'une pathologie. La tolérance psychologique de la petite taille par l'enfant et par sa famille est fonction du niveau de taille et elle varie d'un enfant à l'autre. Il n'y a actuellement pas de traitement dont l'efficacité à augmenter la taille adulte ait été démontrée. Ces enfants sont globalement plus maigres que les enfants de taille normale. Une optimisation de leur apport alimentaire, en particulier par augmentation des laitages, peut augmenter leur potentiel de croissance.

**Tableau I. Etiologies des retards de croissance**

1. Petite taille constitutionnelle
2. Pathologie connue <ul style="list-style-type: none"><li>- anomalie chromosomique autosomique</li><li>- maladie osseuse constitutionnelle</li><li>- affection chronique décompensée</li><li>- corticothérapie continue et prolongée</li></ul>
3. Pathologie endocrinienne <ul style="list-style-type: none"><li>- déficit en GH</li><li>- hypothyroïdie</li><li>- syndrome de Turner</li><li>- retard pubertaire</li><li>- excès de corticostéroïdes</li></ul>
4. Autres étiologies <ul style="list-style-type: none"><li>- retard de croissance intra-utérin</li><li>- trouble psycho-socio-affectif</li><li>- maladie cœliaque</li><li>- pathologie inflammatoire intestinale</li><li>- pathologie rénale</li></ul>

**Tableau II. Recherche de l'étiologie d'un retard de croissance**

Etape 1 <ul style="list-style-type: none"><li>- radio main + poignet gauches face (1 cliché)</li><li>- radio selle turcique profil (1 cliché)</li><li>- IGF I, iono sang, créatinine, labstix</li><li>- VS, T4, TSH, anticorps antigliadine et/ou antiendomysium</li></ul>
Etape 2 <ul style="list-style-type: none"><li>- évaluation sécrétion GH / stimulation <math>\pm</math> sommeil</li></ul>
Autres <ul style="list-style-type: none"><li>- prise pondérale excessive : cortisolurie 24h <math>\pm</math> cycle cortisol</li><li>- fille : caryotype</li><li>- taille <math>&lt; -3</math> DS inexplicée : radio bassin + rachis lombaire</li><li>- TDM ou IRM hypothalamo-hypophysaire si vitesse de croissance <math>&lt;</math> norme avec pic GH <math>&lt; 10-15</math> ng/ml et/ou signes fonctionnels ou physiques associés</li></ul>

### **II.2.2- Pathologie connue**

Dans certains cas, la cause de la petite taille est facile à établir car l'enfant a une pathologie qui ralentit la vitesse de croissance ou qui s'accompagne d'une petite taille. L'indication à faire évaluation pour exclure une pathologie associée peut venir du caractère plus marqué de la petite taille que ce que donne habituellement la pathologie.

### **II.2.3- Pathologie endocrinienne**

#### **II.2.3.1- Déficit en hormone de croissance (GH)**

Le diagnostic de déficit en GH est fait sur l'insuffisance ou l'absence d'augmentation des concentrations plasmatiques de GH en réponse à une stimulation. Les stimuli les plus couramment employés sont le glucagon, l'arginine, l'ornithine et l'hypoglycémie insulinique contrôlée. On parle de déficit en GH lorsque le pic de GH après deux stimulations est inférieur à 7-10 ng/ml (=  $\mu$ g/l).

Le déficit en GH peut être secondaire à une lésion (kyste, tumeur) ou à une irradiation de la région hypothalamo-hypophysaire (4), ou être idiopathique. La lésion la plus fréquente est le craniopharyngiome. Celui-ci induit de manière quasi-constante des modifications de la selle turcique à type d'élargissement ou de calcifications visibles sur la radiographie de la selle turcique de profil. Par contre, le diagnostic de déficit idiopathique en GH est difficile. Certains signes constituent des critères de certitude du diagnostic de déficit idiopathique en GH : forme familiale, hypoglycémie, micropénis (longueur de la verge < 3 cm), syndrome d'interruption de la tige pituitaire à imagerie par résonance magnétique (6). Ce syndrome associe post-hypophyse ectopique, anté-hypophyse petite et tige pituitaire interrompue. Il apporte une confirmation anatomique au diagnostic de déficit en GH. Sa pathogénie est variée et en cours d'analyse : traumatique, malformative ou génétique. Lorsque ces signes sont absents, il s'agit souvent d'un déficit transitoire en GH.

En effet, le diagnostic de déficit idiopathique en GH est souvent fait par excès et ce pour plusieurs raisons. Un certain nombre d'enfants ayant une capacité normale à sécréter de la GH ne répondent pas à une première, voire à une deuxième stimulation. Cela est particulièrement le cas des enfants qui ont un surpoids et des garçons qui ont un retard pubertaire ou qui sont âgés de 10 à 13 ans. Par ailleurs, les concentrations mesurées de GH varient selon la trousse utilisée pour son dosage. Lorsque la réponse aux stimulations pharmacologiques est inférieure à la norme, la mesure de la sécrétion spontanée de GH évaluée durant le sommeil nocturne permet souvent de montrer que la sécrétion de GH est normale. Lorsqu'il s'agit d'un enfant en période prépubertaire ou ayant un retard pubertaire, il est souhaitable d'administrer des stéroïdes sexuels selon un protocole défini avant l'évaluation de la sécrétion de GH (1). Les concentrations plasmatiques de insulin-like growth factor (IGF) I et de sa protéine liante IGFBP-3 dépendent essentiellement de la sécrétion de GH. Ils sont effondrés en cas de déficit idiopathique en GH et constituent ainsi un excellent marqueur du diagnostic (5). En effet, le diagnostic de déficit en GH reste important à faire malgré l'augmentation de la disponibilité en GH, et ce pour les raisons suivantes : 1) la petite taille peut être due à une cause différente du déficit en GH et nécessiter un traitement spécifique ; 2) l'accélération de la vitesse de croissance obtenue avec des doses standards de GH chez les patients ayant un déficit transitoire en GH est médiocre, inférieure à celle obtenue chez ceux ayant un déficit permanent ; 3) le traitement par GH est astreignant et coûteux ; 4) la constatation d'un déficit en GH conduit à rechercher un autre déficit hypophysaire et une étiologie.

Le syndrome de Laron donne un aspect clinique ressemblant à celui du déficit en GH. Il n'est pas dû à un déficit en GH mais à une résistance par anomalie du récepteur hépatique à cette hormone. Les concentrations plasmatiques de GH sont élevées. En revanche, celles de IGF-I sont effondrées. Sa transmission est récessive autosomique.

### *II.2.3.2- Hypothyroïdie (voir chapitre correspondant)*

Le ralentissement de la vitesse de croissance staturale est le plus souvent associé à une prise pondérale excessive et à d'autres signes cliniques d'hypothyroïdie (constipation, diminution des performances scolaires et goût en cas de thyroïdite). Le traitement substitutif permet un rattrapage statural.



### *II.2.3.3. Syndrome de Turner*

Sa fréquence est de 1/3 000 naissances de filles. Il associe une anomalie d'un chromosome X, une petite taille et une anomalie gonadique congénitale. La taille adulte moyenne des filles qui ont un syndrome de Turner varie de 142 à 147 cm selon les pays où les données ont été recueillies et selon les tailles des parents. L'anomalie gonadique est responsable de l'absence de développement spontané de la puberté (80 % des cas) et de la stérilité dans la majorité des cas. L'intelligence et l'adaptation à la vie d'adulte sont le plus souvent normales. Parmi les anomalies observées dans le syndrome de Turner, celles qui constituent réellement un problème sont la petite taille et la stérilité. Ces enfants peuvent être traités par GH. Étant donné que la sécrétion de GH est normale, l'efficacité du traitement à augmenter la taille adulte est variable. Ce traitement semble permettre un gain de taille adulte moyen de 5 cm par rapport aux enfants non traités [7]. Ceci amène la taille adulte moyenne autour de 150 cm. Le traitement substitutif par estrogènes, puis par estroprogestatifs, permet une croissance pubertaire normale, un développement des seins, puis la survenue de règles. Les parents ont besoin d'entendre que les organes génitaux sont normaux, permettant une vie sexuelle normale et que le développement pubertaire se fera normalement spontanément ou grâce à un traitement. Le don d'ovocytes pour fécondation in vitro permet des grossesses. La prise en charge de ces problèmes justifie le diagnostic précoce de syndrome de Turner, une information claire des parents puis de l'enfant devenue adolescente.

### *II.2.3.4- Excès de corticostéroïdes*

Il peut être iatrogène ou d'origine endogène. Le syndrome de Cushing est caractérisé par une hypersécrétion de cortisol (voir chapitre correspondant). Il est rare chez l'enfant. Les principaux signes sont : ralentissement de la vitesse de croissance staturale, prise pondérale excessive, douleurs dorsales secondaires à l'ostéoporose et vergetures. Le diagnostic d'hypercorticisme est suspecté sur l'augmentation de la cortisolurie des 24 heures ( $> 50 \mu\text{g}$ ). La concentration plasmatique de l'adrenocorticotrope hormone (ACTH) est augmentée si l'hypercorticisme est d'origine centrale, hypothalamo-hypophysaire ou basse s'il est d'origine périphérique, surrénalienne. L'administration prolongée de doses pharmacologiques de corticoïdes ralentit la vitesse de croissance staturale. L'arrêt du traitement n'est pas toujours suivi d'un rattrapage.

### *II.2.4- Retard de croissance à début intra-utérin (RCIU)*

Il est la cause de 10 % des petites tailles, et peut porter sur le poids, la taille ou le plus souvent les deux. Il est habituellement défini par un poids de naissance situé en dessous de  $- 2 \text{ DS}$  pour le terme (8). Celui-ci est calculé en semaines à partir de la date de survenue des dernières règles. Contrairement aux prématurés ayant un poids de naissance normal pour leur âge gestationnel, environ 20 % des enfants qui ont un RCIU n'ont pas de rattrapage statural. Celui-ci se produit tôt, en règle générale avant l'âge de un an. Ses facteurs ne sont pas connus (2).

### *II.2.5- Traitement*

Il dépend de l'étiologie de la petite taille. Les règles du traitement par GH sont détaillées dans le Journal Officiel du 20/1/97 (p. 1484 à 1501) et du 11/2/97 (p. 2313 à

2323). Un enfant peut être traité par GH s'il a une petite taille due à un déficit en GH, un syndrome de Turner, une insuffisance rénale chronique ou un RCIU. Dans le cadre du déficit en GH, les critères pour obtenir une prise en charge financière sont une taille inférieure à  $-2$  DS ou une vitesse croissance inférieure à 4 cm dans l'année écoulée et un pic de GH inférieur à 10 ng/ml après deux épreuves de stimulation distinctes. Dans le syndrome de Turner, l'âge osseux doit être inférieur à 12 ans. Dans l'insuffisance rénale chronique, la clairance de la créatinine doit être diminuée d'au moins 50 %, la taille inférieure à  $-2$  DS ou la vitesse croissance inférieure à 4 cm dans l'année écoulée et l'âge osseux indiquer une croissance résiduelle importante. La dose accordée en U/kg/semaine est de 0,5 à 0,7 dans le déficit en GH et 0,9 à 1 dans les autres indications. Une demande sur formulaire « protocole d'examen spécial » est faite au médecin de la caisse d'assurance maladie. Lorsque l'accord de traitement est donné, la prescription est faite sur une ordonnance spéciale « ordonnance de médicament d'exception » pour 6 mois. La prescription initiale et annuelle est hospitalière et réservée aux spécialistes en pédiatrie, endocrinologie ou maladies métaboliques. Elle peut être faite pour 6 mois et le renouvellement dans l'année est possible par tout médecin. L'injection de GH est faite en sous-cutané, de préférence le soir pour reproduire les concentrations de GH physiologiquement plus élevées la nuit que le jour, six jours par semaine avec un jour sans injection et ce dans un but psychologique. Les injections sont dans la majorité des cas faites par les parents, ceux-ci ayant été formés par une infirmière. Le traitement est arrêté lorsque la taille est de 170 cm chez le garçon et de 160 cm chez la fille, ou la croissance faible dans les 6 mois précédents, ou que l'âge osseux indique que la croissance est proche de son terme. À ce jour, il n'a pas été rapporté d'effet notable secondaire à l'utilisation de GH biosynthétique.

### **II.3- Grande taille et/ou vitesse de croissance supérieure à la norme**

La grande taille est le plus souvent ( $> 80$  %) de type constitutionnel (Tableaux III et IV). La fréquence des pubertés avancées (début entre 8 et 10 ans chez la fille et entre 9 et 11 ans chez le garçon) est probablement plus élevée chez les enfants qui ont une grande taille constitutionnelle que dans la population générale. Lorsque la grande taille est due à une pathologie hormonale, elle s'accompagne le plus souvent d'une vitesse de croissance supérieure à la norme pour l'âge, d'une avance de l'âge osseux et d'anomalies à l'examen clinique. Le traitement spécifique de cette pathologie normalise la vitesse de croissance.

La taille adulte peut être prédite à partir de 7-8 ans à partir de la taille de l'enfant et de son âge osseux. Il semble que le niveau de taille adulte au-dessus duquel surviennent les difficultés psychologiques se situe autour de 180 cm chez la fille et de 195 cm chez le garçon. Les difficultés d'indications thérapeutiques viennent en partie du fait que lorsqu'on fait une prédiction de taille adulte à l'âge de 11 ans, la marge d'erreur est de 5 cm. Or ceci représente la réduction moyenne de taille obtenue avec les stéroïdes sexuels. L'utilisation de stéroïdes sexuels vient de l'observation que dans les pubertés précoces, la sécrétion prématurée de stéroïdes sexuels accélère la maturation osseuse, ce qui induit une réduction de la durée de la croissance. Les analogues de la somatostatine agissent en réduisant la sécrétion de GH. Leur efficacité à réduire la taille adulte et leur tolérance ne sont pas précisées.

**Tableau III. Conduite pratique devant un enfant de grande taille**

Questions	Réponses
1. Quelle est la cause de la grande taille ?	Le plus souvent constitutionnelle
2. Quels éléments font rechercher une pathologie ?	Vitesse de croissance > norme pour l'âge Age osseux - âge réel > 2 ans Anomalies à l'examen clinique
3. Quelle sera la taille adulte ?	La prédiction de taille peut-être calculée à partir de l'âge osseux et du niveau de taille
4. Quelles sont les indications à un traitement pour réduire la taille adulte ?	Prédiction de taille adulte > 180 cm F/195 cm G et mauvaise tolérance psychologique
5. Quels sont les moyens thérapeutiques ?	Stéroïdes sexuels pour accélérer la maturation osseuse Analogues de somatostatine - Efficacité et risques à prendre en compte

**Tableau IV. Diagnostic étiologique des grandes tailles**

Etiologie	Arguments du diagnostic
1. Constitutionnelle	Etiologie la plus fréquente Grandes tailles familiales Croissance régulière Absence d'anomalie clinique Age osseux = âge réel
2. Pathologie endocrinienne	
2.1. Hyperthyroïdie	Tachycardie, hypertension, artérielle, thyroxine plasmatique augmentée
2.2. Puberté précoce	Développement des caractères sexuels < 8 ans F, < 10 ans G
2.3. Hypersécrétion de GH	Très rare Concentrations plasmatiques élevées de GH et IGF 1
3. Pathologie non endocrinienne	
3.1. Syndrome de Sotos ou gigantisme cérébral	Grandes dimensions à la naissance Macrocranie avec dysmorphie Retard du développement mental
3.2. Syndrome de Marfan	Anomalies oculaires et cardiaques
3.3. Syndrome de Klinefelter	Présence de X supplémentaire(s) au caryotype Insuffisance testiculaire tubulaire
3.4. Syndrome de Wiedemann-Beckwith	Nouveau-né avec hypoglycémies par hyperinsulinisme Macroglossie Acromégalie

## RÉFÉRENCES

- 1- ADAN L., SOUBERBIELLE J.C., BRAUNER R. Management of the short stature due to pubertal delay in boys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1994 ; 78 : 478-482.
- 2- BRAUNER R., DE ZEGHER F. Croissance et maturation fœtales. *Médecine Sciences.* 1993 ; 9 : 271-227.
- 3- BRAUNER R. Conduite à tenir devant un retard de croissance. *Encycl. Méd. Chir., AKOS. Encyclopédie pratique de médecine*, 8-0595, 2001.

- 4- BRAUNER R., ADAN L., SOUBERBIELLE J.C. Hypothalamic-pituitary function and growth in children with intracranial lesion. *Child's Nervous System*. 1999 ; 15 : 662-669.
- 5- BUSSIÈRES L., SOUBERBIELLE J.C., PINTO G., ADAN L., NOEL M., BRAUNER R. The use of insulin-like growth factor I reference values for the diagnosis of growth hormone deficiency in prepubertal children. *Clin. Endocrinol*. 2000 ; 52 : 735-739.
- 6- PINTO G., ADAN L., SOUBERBIELLE J.C., THALASSINOS C., BRUNELLE F., BRAUNER R. Idiopathic growth hormone deficiency: presentation, diagnostic and treatment during childhood. *Ann. Endocrinol. (Paris)* 1999 ; 60 : 224-231.
- 7- ROSENFELD R.G., ATTIE K.M., FRANE J. et al. Growth hormone therapy of Turner's syndrome: beneficial effect on adult height. *J. Pediatr*. 1998 ; 132 : 319-324.
- 8- USHER R., MC LEAN F. Intrauterine growth of liveborn caucasian infants at sea level: standards obtained from measurements in 7 dimensions of infants born between 25 and 44 weeks of gestation. *J. Pediatr*. 1969 ; 74 : 901-910.

### ■ III. ANOMALIES DE LA PUBERTÉ

---

Il peut s'agir de puberté précoce ou de retard pubertaire [4]. La puberté précoce est définie par le développement des caractères sexuels avant l'âge de 8 ans chez la fille et de 9 à 10 ans chez le garçon. Le retard pubertaire est défini par l'absence de développement des caractères sexuels au-delà de l'âge de 13 ans chez la fille et de 14 ans chez le garçon. La puberté précoce et le retard pubertaire peuvent être une variante de la puberté normale ou correspondre à une puberté pathologique. L'anomalie responsable peut alors être d'origine centrale, hypothalamo-hypophysaire, ou périphérique, gonadique ou surrénalienne.

#### **III.1- Variantes de la puberté normale**

Elles incluent les pubertés précoces partielles ou dissociées, les variations des premières menstruations de la fille, les pubertés avancées et le retard pubertaire simple du garçon. Elles ne correspondent pas à des situations pathologiques, mais posent la question du diagnostic différentiel avec elles.

##### ***III.1.1- Pubertés précoces partielles ou dissociées***

Elles correspondent au développement prématuré isolé d'un caractère sexuel, non secondaire à une pathologie. Ainsi, il peut s'agir chez la fille d'un développement des seins, aussi appelé prémature thelarche (Tableau I), ou dans les deux sexes de la pilosité sexuelle, aussi appelé prémature pubarche ou prémature adrenarche (Tableau II). Lorsque le diagnostic de puberté précoce partielle est retenu, aucun traitement n'est nécessaire. Il faut cependant s'assurer que le développement du caractère sexuel reste isolé avec un recul supérieur à un an. Le développement isolé des seins régresse spontanément dans 80 % des cas.

**Tableau I. Premature thelarche**

Définition : développement prématuré isolé des seins chez la fille, non pathologique.
Mécanisme : stimulation hypothalamo-hypophyso-ovarienne transitoire ou sensibilité accrue de la glande mammaire à l'estradiol ?
Eléments du diagnostic : - âge inférieur à 3 ans - absence de signe de puberté précoce pathologique : pilosité sexuelle accélération de la croissance avance d'âge osseux augmentation de l'estradiol - maintien du caractère isolé après un recul supérieur à 1 an

**Tableau II. Premature pubarche ou adrenarche**

Définition : développement prématuré isolé de pilosité sexuelle ± acné, non pathologique.
Mécanisme : maturation surrénalienne précoce.
Eléments du diagnostic : - fille 80 % des cas - âge supérieur à 6 ans - absence de signe de puberté précoce pathologique : développement des seins accélération de la croissance avance d'âge osseux autres signes d'hyperandrogénie (hirsutisme, /clitoris) - concentrations plasmatiques de testostérone et 17OH-progesterone normales

### **III.1.2- Variations des premières menstruations**

Un très faible pourcentage de filles bien portantes (inférieur à 5 %) débutent leur puberté par des menstruations. Ainsi, lorsqu'une fille de 10 à 11 ans est vue pour un saignement génital alors qu'elle n'a aucun autre signe de développement pubertaire, il s'agit le plus souvent d'un signe de démarrage pubertaire. A l'inverse, le délai entre le début clinique de la puberté et la survenue des premières règles peut être supérieur à la normale (2 ans). Le délai est considéré comme anormal lorsqu'il est supérieur à 3 ans. Cela conduit à rechercher des causes psychologiques, nutritionnelles, locales voire une insuffisance ovarienne partielle. Les irrégularités menstruelles sont fréquentes après l'apparition des premières règles.

### **III.1.3- Puberté avancée**

Elle est définie par un démarrage pubertaire entre 8 et 10 ans chez la fille, et entre 9 et 11 ans chez le garçon. Elle pose deux questions : faut-il rechercher une pathologie à son origine ? y-a-t-il un risque de réduction de la taille adulte ? Lorsqu'il n'y a pas de puberté avancée familiale ou que la progression clinique de la puberté est anormalement rapide, une tomodensitométrie de la région hypothalamo-hypophysaire et des voies optiques permet d'exclure une tumeur de cette région. Une puberté avancée peut réduire le potentiel de croissance de 5 cm au maximum. Cette réduction ne pose pas de problème lorsque la taille de l'enfant est proche de la moyenne, mais elle peut aggraver le déficit statural d'un enfant déjà petit. Le traitement freinateur de la puberté n'évite pas cette réduction.

## III.2- Puberté précoce

### III.2.1- Origine (Tableau III)

Les pubertés précoces pathologiques peuvent être d'origine :

- centrale : ce sont les pubertés précoces vraies, secondaires à une activation prématurée de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique ;
- périphérique : ce sont les pseudo-pubertés précoces, secondaires à une sécrétion anormale de stéroïdes sexuels, sécrétion d'origine gonadique ou surrénalienne, indépendante d'une stimulation hypothalamo-hypophysaire (Tableau IV).

La réponse des gonadotrophines (LH et FSH) à l'injection (test) de LHRH est de type pubertaire dans les formes centrales, avec un pic de LH supérieur au pic de FSH, et plate dans les formes périphériques.

Chez la fille, le motif de consultation est le développement avant l'âge de 8 ans des seins, de la pilosité sexuelle, de menstruations et/ou l'accélération de la vitesse de croissance staturale. L'association du développement des seins et de la pilosité sexuelle est le motif de consultation le plus fréquent ; il correspond le plus souvent à une puberté précoce centrale. Lorsqu'il persiste un doute sur l'origine centrale ou périphérique de la puberté précoce, l'échotomographie abdomino-pelvienne permet d'avancer en montrant l'absence d'anomalie ovarienne et/ou surrénalienne.

Chez le garçon, le motif de consultation est le plus souvent un développement avant l'âge de 10 ans de la pilosité sexuelle et d'une augmentation de la taille de la verge, avec survenue d'érections. Le volume testiculaire est l'élément qui guide vers l'origine centrale ou périphérique de la puberté précoce. En effet, des dimensions testiculaires pubertaires (supérieures à  $3 \times 2$  cm) indiquent une origine centrale de la puberté précoce. Si les dimensions testiculaires sont prépubères ( $2 \times 1$  cm), la concentration plasmatique de testostérone guide l'enquête étiologique.

### III.2.2- Pubertés précoces centrales

Elles sont beaucoup plus fréquentes que les pubertés précoces périphériques.

#### III.2.2.1- Formes étiologiques

Le mécanisme qui induit l'activation prématurée de l'axe hypothalamo-hypophyso-gonadique est dans presque tous les cas inconnu. Les étiologies des pubertés précoces cen-

**Tableau III. Etiologies des pubertés précoces périphériques**

1. Fille	2. Garçon
1.1. Isosexuelles par production d'estrogènes Ovaires : syndrome de McCune-Albright, kyste, tumeur Surrénales : corticosurrénalome	2.1. Isosexuelles par production d'androgènes Testicules : testotoxicose Tumeurs sécrétant de la testostérone ou hCG Surrénales : avant tout hyperplasie congénitale des surrénales corticosurrénalome
1.2. Hétérosexuelles par production d'androgènes Ovaires : tumeur Surrénales : avant tout hyperplasie congénitale des surrénales corticosurrénalome	2.2. Hétérosexuelles par production d'estrogènes Testicules : tumeur Surrénales : corticosurrénalome

**Tableau IV. Etiologies des retards pubertaires**

<p>1. Anomalies hypothalamo-hypophysaires (= hypogonadismes hypogonadotropes)  Absence d'augmentation de FSH et LH sous LHRH  Congénitales : insuffisance hypophysaire  - globale  - isolée en gonadotrophines avec ou sans anosmie  Acquises  - tumeurs (craniopharyngiome, adénome à prolactine)  - irradiation  Fonctionnelles  - affection chronique décompensée  - troubles psychologiques (dont anorexie mentale)</p>
<p>2. Anomalies gonadiques (= hypogonadismes hypergonadotropes)  Concentrations plasmatiques de FSH et LH élevées</p> <p>2.1. Fille  Congénitales  Anomalies des chromosomes sexuels  - syndrome de Turner  - dysgénésies gonadiques pures 46XX ou 46XY  Insuffisances ovariennes primitives  Acquises  - chimiothérapie  - irradiation  - autoimmunes</p> <p>2.2. Garçon  Congénitales  Anomalies des chromosomes sexuels  - syndrome de Klinefelter (47,XXY)  - dysgénésies gonadiques  Anorchidie, ectopie testiculaire  Acquises :  - chimiothérapie  - irradiation  - infection, torsion, traumatisme</p>
<p>3. Retard pubertaire simple</p>

trales ont une répartition différente selon le sexe : elles sont le plus souvent (70 à 80 % des cas) idiopathiques chez la fille et lésionnelles chez le garçon. En effet si la fréquence des formes lésionnelles est la même dans les deux sexes, les formes idiopathiques sont beaucoup plus fréquentes chez les filles que chez les garçons [5]. Le problème de l'étiologie de la puberté précoce centrale se pose différemment selon le contexte dans lequel elle survient. En effet dans certains cas il est facile de la rapporter à une étiologie, soit parce qu'elle survient chez un enfant traité pour une pathologie connue pour être cause de puberté précoce centrale (hydrocéphalie, gliome du chiasma, antécédents d'irradiation crânienne), soit parce qu'elle s'accompagne de signes neurologiques, oculaires ou cutanés (maladie de Von Recklinghausen) qui orientent d'emblée vers une étiologie. Mais le plus souvent, la puberté précoce centrale paraît isolée au premier examen. Une tomographie cérébrale est faite de manière systématique devant toute puberté précoce centrale. Elle doit permettre de bien analyser la région hypothalamo-hypophysaire et les voies optiques, les deux étiologies les plus fréquentes étant le gliome des voies optiques et l'hamartome hypothalamique. Lorsque le premier examen neuroradiologique est normal, le risque de voir se développer ultérieurement une tumeur semble être nul.

### *III.2.2.2- Formes évolutives*

Dans les pubertés précoces centrales lésionnelles et chez le garçon, le traitement freinateur est nécessaire. A l'inverse, chez la fille ayant une puberté précoce centrale idiopathique, l'évolutivité est variable d'un cas à l'autre [6]. Le plus souvent (50 à 60 % des cas), il s'agit d'une forme classique évolutive nécessitant un traitement freinateur d'emblée. Plus rarement (20 à 30 % des cas), il s'agit d'une forme peu évolutive qui ne nécessite pas de traitement freinateur d'emblée à condition de pouvoir assurer une surveillance semestrielle.

### *III.2.2.3- Traitement*

L'augmentation prématurée de la sécrétion de stéroïdes sexuels augmente la vitesse de croissance staturale et accélère la progression de l'âge osseux. Cela peut induire une souduure prématurée des cartilages de croissance et donc réduire la durée de la croissance, aboutissant à la réduction de la taille adulte. Les analogues du stimulus hypothalamique des cellules gonadotropes de l'hypophyse (LHRH) sont utilisés à forte dose pour freiner la sécrétion des gonadotrophines par l'hypophyse. Ce freinage est dû à l'occupation par le LHRH administré du récepteur de l'hypophyse au LHRH endogène. Ils suppriment l'activité hypophyso-gonadique, et donc la sécrétion de stéroïdes sexuels. Ils freinent ainsi la progression de l'âge osseux. Le ralentissement plus marqué de la maturation osseuse que de la croissance staturale permet une préservation du potentiel de croissance (3). A l'arrêt du traitement, le développement pubertaire reprend. Il n'a pas été rapporté d'effet secondaire de ce traitement. La fonction de reproduction ne devrait pas être altérée, mais cela demande à être confirmé avec plus de recul. Du fait de ces éléments et du coût élevé des analogues du LHRH, la décision de traitement est à prendre en service spécialisé.

## **III.3. Retard pubertaire**

Il est responsable d'un retard à l'accélération de la vitesse de croissance staturale, accélération qui survient normalement à la puberté. Ceci explique que le motif de consultation soit souvent la petite taille.

### *III.3.1- Origine*

Les étiologies du retard pubertaire peuvent être classées en trois groupes : les anomalies hypothalamo-hypophysaires, les anomalies gonadiques, et le retard pubertaire simple c'est-à-dire suivi d'un développement pubertaire spontané complet (Tableau V). Les anomalies peuvent être congénitales ou acquises (2). Les concentrations plasmatiques de gonadotrophines (FSH et LH) sont normales ou basses dans les anomalies hypothalamo-hypophysaires et dans le retard pubertaire simple, et augmentées dans les anomalies gonadiques. Cependant, cette augmentation n'apparaît que lorsque l'âge osseux a dépassé 11 à 12 ans chez la fille et 13 à 14 ans chez le garçon. Ainsi, la mesure de ces concentrations permet de distinguer les anomalies gonadiques des autres groupes. Nous détaillerons le retard pubertaire simple du garçon, situation de loin la plus fréquente.

### *III.3.2- Conduite du diagnostic chez le garçon* (Tableau VI)

Le plus souvent à la première consultation pour retard pubertaire, il y a une augmentation des dimensions des testicules (supérieures à  $3 \times 2$  cm) ; cela indique que l'axe hypothalamo-hypophyso-testiculaire est probablement normal. Le développement de la pilosité



**Tableau V. Conduite du diagnostic devant un garçon ayant un retard pubertaire**

Questions	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Absence de puberté ou signes de démarrage pubertaire ?</li> <li>2. S'agit-il d'un retard pubertaire pathologique ou simple ?</li> <li>3. La petite taille est-elle due uniquement au retard pubertaire ?</li> <li>4. Quelle sont les indications de traitement ?</li> </ol>
Informations nécessaires	<ul style="list-style-type: none"> <li>- tailles et âges pubertaires dans la famille</li> <li>- antécédents : ectopie testiculaire, pathologie</li> <li>- troubles fonctionnels : céphalées, diarrhée, anosmie</li> <li>- contexte psycho-socio-affectif</li> <li>- apport alimentaire et sport</li> </ul>
Examen clinique	<ul style="list-style-type: none"> <li>- courbe de croissance staturo-pondérale</li> <li>- volume testiculaire et stade de développement pubertaire</li> </ul>
Examens complémentaires	<p>1<sup>re</sup> étape</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- radio main + poignet gauches de face</li> <li>- radio selle turcique profil</li> <li>- concentrations plasmatiques de FSH, LH, testostérone et prolactine</li> <li>- selon le contexte : vitesse de sédimentation, anticorps antigliadine, T4, TSH</li> </ul> <p>2<sup>e</sup> étape</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- test au LHRH</li> <li>- tomодensitométrie de la région hypothalamo-hypophysaire</li> </ul>

**Tableau VI. Puberté précoce : objectif des examens complémentaires**

Objectif : déterminer
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. s'il s'agit d'une variante de la puberté normale ou d'une puberté précoce pathologique</li> <li>2. devant une puberté précoce pathologique, si elle est centrale ou périphérique       <ul style="list-style-type: none"> <li>- test au LHRH</li> <li>- si pilosité sexuelle au 1<sup>er</sup> plan, 17 OH progestérone de base et au besoin sous synacthène pour chercher un déficit en 21 hydroxylase, testostérone</li> </ul> </li> <li>3. quelle en est la cause ?       <ul style="list-style-type: none"> <li>- si centrale, imagerie de la région hypothalamo-hypophysaire et des voies optiques</li> <li>- si périphérique chez la fille, radiographie du squelette à la recherche d'une dysplasie fibreuse des os dans le cadre d'un syndrome de Mc Cune Albright</li> </ul> </li> <li>4. dans les formes centrales chez les filles, décider de l'indication d'un traitement freinateur       <ul style="list-style-type: none"> <li>- radiographie de la main et du poignet gauches pour âge osseux</li> <li>- estradiol</li> <li>- échographie pelvienne pour évaluer les dimensions de l'utérus (longueur d'un utérus prépubère &lt; 30 mm) et exclure une anomalie des ovaires</li> </ul> </li> </ol>

sexuelle est moins informatif que l'augmentation des dimensions des testicules car il est en partie dû à l'augmentation des androgènes surrénaliens. L'âge osseux est en règle inférieur à l'âge chronologique et à l'âge osseux de démarrage pubertaire qui est de 13 ans chez le garçon.

Chez le garçon, il s'agit dans 80 % des cas d'un retard pubertaire simple. Cependant, c'est un diagnostic d'exclusion. Les éléments en faveur de ce diagnostic sont : l'existence de retards pubertaires simples dans la famille et une concentration plasmatique de gonadotrophines non élevée.

Le pic de croissance pubertaire survient en moyenne à l'âge de 14 ans chez le garçon . En cas de retard pubertaire, le pic de croissance est retardé, ce qui induit un changement de couloir de croissance (1). Cela pose deux questions : d'une part celle de ne pas méconnaître une pathologie qui serait responsable du retard pubertaire et du changement de couloir de croissance ; d'autre part, une fois une pathologie exclue, de discuter un traitement par la testostérone.

### **III3.3- Indications thérapeutiques**

Lorsque le retard pubertaire survient chez un patient suivi pour une pathologie connue, il conduit à essayer d'optimiser le traitement de cette pathologie. Lorsqu'il est secondaire à une anomalie hypothalamo-hypophysaire ou gonadique, il est une indication à un traitement substitutif par les stéroïdes sexuels. Le but de ce traitement est d'induire un gain statural pubertaire, un développement des caractères sexuels secondaires puis une activité sexuelle adulte normale. Il est débuté vers l'âge de 11 à 12 ans chez la fille et de 13 ans chez le garçon, en tenant compte de la demande de l'adolescent. Il est mené en trois étapes : d'abord stéroïdes sexuels à faible dose pour accélérer la vitesse de croissance sans faire progresser de manière excessive la maturation osseuse ; puis, lorsque la taille adulte est proche ou atteinte, passage à une dose adulte et à un schéma cyclique estro-progestatif pour induire des règles chez la fille ; puis lorsqu'il y a souhait de fertilité, et que l'anomalie est hypothalamo-hypophysaire et non gonadique, les stéroïdes sexuels sont remplacé par un traitement qui a pour objectif d'induire l'ovulation chez la fille et de développer les tubes séminifères chez le garçon.

En conclusion, la prise en charge d'un adolescent qui a un retard pubertaire comporte : 1) la recherche d'une pathologie à l'origine de ce retard ; 2) la prise des décisions thérapeutiques ; 3) l'information de l'adolescent. En effet, la connaissance des éléments suivants permet de mieux gérer le retard pubertaire : fonction des gonades, vie sexuelle normale, en cas d'anomalie hypothalamo-hypophysaire possibilité de fertilité, en cas d'anomalie testiculaire possibilité de mise en place de prothèses testiculaires et de recours aux banques de sperme.

## **RÉFÉRENCES**

- 1- ADAN L., SOUBERBIELLE J.C., BRAUNER R. Management of the short stature due to pubertal delay in boys. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1994 ; 78 : 478-482.
- 2- ADASHI E.Y., HENNEBOLD J.D. Single-gène mutations resulting in reproductive dysfunction in women. *N. Engl. J. Med.* 1999 ; 340 : 709-718.
- 3- BRAUNER R., ADAN L., MALANDRY F., ZANTLEIFER D. Adult height in girls with idiopathic true precocious puberty. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1994 ; 79 : 415-420.
- 4- BRAUNER R. Puberté normale et pathologique. *Encyclopédie Médico-Chirurgicale, Pédiatrie*, 4-107-B-10, 10 p., 2001.
- 4- FONTOURA M., BRAUNER R., PREVOT C., RAPPAPORT R. Precocious puberty in girls: early diagnosis of a slowly progressing variant. *Arch. Dis. Child.* 1989 ; 64 : 1170-1176.

5- CÆRTER K.E., URIARTE M.M., ROSE S.R., BARNES K.M., CUTLER G.B. Jr. Gonadotropin secretory dynamics during puberty in normal girls and boys. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1990 ; 71 : 1251-1258.

6- ROSENFELD R.G., ATTIE K.M., FRANE J. et al. Growth hormone therapy of Turner's syndrome: beneficial effect on adult height. J. Pediatr. 1998 ; 132 : 319-324.

## ■ IV. OBÉSITÉ

Le surpoids est défini par un excès de tissu adipeux. Pour le quantifier, on utilise des courbes de référence comparant le poids à la taille. On parle de surpoids lorsque le poids se situe au-dessus de + 2 déviations standards (DS) par rapport à la moyenne du poids pour la taille. Le niveau de l'excès pondéral est mieux compris par l'enfant et par sa famille lorsqu'il est exprimé en kg. L'inconvénient de cette méthode est qu'elle ne tient pas compte de l'âge de l'enfant. Or la corpulence varie avec l'âge. L'indice de masse corporelle (poids en kg/[taille en m]<sup>2</sup>, body mass index, BMI) ou indice de Quetelet est considéré comme un bon indicateur de la masse grasse.

*Tableau 1. Prise en charge de l'obésité de l'enfant*

Diagnostic	<ul style="list-style-type: none"> <li>1. Examen clinique <ul style="list-style-type: none"> <li>courbes de croissance taille et poids et courbe de BMI</li> <li>tension artérielle, vergetures</li> </ul> </li> <li>2. Examens complémentaires <ul style="list-style-type: none"> <li>T4, TSH</li> <li>cortisol urines 24 h</li> <li>radio selle turcique profil</li> <li>dans certains cas : tomodensitométrie cérébrale, cortisol minuit et après dexaméthasone</li> </ul> </li> </ul>
Traitement	<ul style="list-style-type: none"> <li>pathologie causale</li> <li>diététique</li> <li>psychologique</li> </ul>

### IV.1- Etiologies

Dans l'immense majorité des cas, il s'agit d'un surpoids « simple », c'est-à-dire non lié à une pathologie. Cependant, certains surpoids sont secondaires à une pathologie endocrinienne ou font partie d'un syndrome.

#### IV.1.1- Causes endocriniennes

Trois pathologies endocriniennes peuvent induire un surpoids : l'hypothyroïdie, l'hypercorticisme et les anomalies de la région hypothalamo-hypophysaire. Le surpoids est alors associé à un ralentissement de la vitesse de croissance staturale, ralentissement responsable d'un changement de couloir de croissance.

Le diagnostic d'hypothyroïdie est fait par la mesure de la concentration plasmatique de thyroxine. Etant donné que son étiologie est le plus souvent une thyroïdite, un goître est présent et la concentration de thyroid stimulating hormone (TSH) est élevée.

Les éléments cliniques en faveur d'un hypercorticisme sont : douleurs dorsales, hypertension artérielle, distribution facio-tronculaire de la surcharge pondérale, et vergetures pourpres. Il est recherché par la mesure de la cortisolurie des 24 heures (norme < 50 µg) au besoin complété par un cycle du cortisol.

Les anomalies de la région hypothalamo-hypophysaire peuvent être responsables de surpoids par déficit en hormone de croissance (GH) et en TSH, et probablement par hyperinsulinisme. La lésion la plus fréquente est le craniopharyngiome. L'intervention d'exérèse peut être suivie d'une boulimie responsable d'une accentuation majeure du surpoids.

#### ***IV.1.2- Syndromes particuliers***

Le syndrome de Willi Prader associe retard mental, hypotonie, déficit statural, insuffisance gonadique et surpoids. Le syndrome de Laurence-Moon-Bardet-Biedl associe retard mental, polydactylie, rétinite pigmentaire, insuffisance gonadique et surpoids. L'importance de ces troubles, et en particulier du retard mental, dans chacun de ces deux syndromes, est variable selon les patients.

#### ***IV.1.3- Surpoids « simple »***

La vitesse de croissance staturale est normale ou supérieure à la norme pour l'âge. L'examen clinique précise la distribution du surpoids, la présence de vergetures et la tension artérielle. Des anomalies biologiques sont décrites en association avec les surpoids importants : hyperinsulinisme, augmentation de la concentration plasmatique d'acides gras et de la leptine (2). Ces anomalies disparaissent lorsque le poids redevient normal et leur recherche systématique n'est pas nécessaire chez l'enfant. La puberté est souvent avancée.

Le rôle relatif des facteurs génétiques et d'un apport alimentaire trop élevé est discuté. Il est en effet difficile de préciser ce qui revient aux habitudes alimentaires familiales et au facteur génétique. Un des modes d'intervention de celui-ci dans la constitution du surpoids serait : dans certaines familles, la consommation énergétique pour la croissance et pour l'entretien serait diminuée. L'existence d'animaux génétiquement obèses est en faveur du facteur génétique. Cependant l'excès d'apport alimentaire est à considérer comme le facteur essentiel sur les éléments suivants : 1) la mesure des ingesta chez les enfants ayant un surpoids montre qu'ils sont supérieurs à la norme pour l'âge ; 2) la réduction de l'apport alimentaire induit une réduction pondérale ; 3) un impact diététique sur l'enfant et sur sa famille est possible, si on considère que l'excès alimentaire joue un rôle prépondérant par rapport au facteur génétique. De plus, les enfants ayant un surpoids ont souvent une inactivité relative et, semble-t-il, une diminution de leur consommation énergétique lorsqu'ils sont actifs.

### **IV.2- Complications**

Les complications du surpoids « simple » sont rares chez l'enfant : hypertension artérielle, gêne cardio-vasculaire et gêne respiratoire. Les deux risques sont : 1) les mauvaises habitudes alimentaires qui conduisent à un surpoids à l'âge adulte, 2) la mauvaise tolérance

psychologique du surpoids. Les moqueries des camarades conduisent à un repli de l'enfant sur lui-même. Le malaise du corps conduit à une réduction de l'activité sportive et des activités de groupe.

### **IV.3- Traitement**

Les drogues, en particulier les anorexigènes, ne sont pas utilisées chez l'enfant. Un soutien psychologique peut être bénéfique : 1) par la résolution d'un problème responsable de la polyphagie ; 2) il peut permettre une acceptation du régime et une meilleure prise de conscience de l'image du corps. Une prise en charge en groupe, avec des discussions diététiques, peut être efficace. Encourager l'enfant à pratiquer le sport qui lui fait plaisir constitue aussi une bonne aide.

L'élément essentiel du traitement est la modification des habitudes alimentaires. Ses principes sont : 1) réduction de l'apport calorique avec régime écrit et prise en charge diététique, 2) réduction de la consommation des sucres et des graisses et suppression des grignotages, 3) repas réguliers et en particulier nécessité d'un petit déjeuner.

En conclusion, le surpoids de l'enfant est le plus souvent lié à un excès d'apport alimentaire. Il est très rarement lié à une anomalie endocrinienne mais celle-ci doit être reconnue car elle nécessite un traitement spécifique. Le maintien d'une vitesse de croissance staturale normale est contre une pathologie. Le traitement consiste en une prise en charge diététique, au besoin complétée par une prise en charge psychologique.

## **RÉFÉRENCES**

- 1- ROLLAND-CACHERA M.F., COLE T.J., SEMPÉ M., TICHET J., ROSSIGNOL C., CHARRAUD A. Body mass index variations: centiles from birth to 87 years. Eur. J. Clin. Nutr. 1991 ; 45 : 13-21.
- 2- CONSIDINE R., SINHA M., HEIMAN M., KRIAUGIUNAS A., STEPHENS T., NYCE M., OHANNESIAN J., MARCO C., MC KEE L., BAUER T., CARO. Serum immunoreactive-leptin concentration in normal-weight and obese humans. N. Engl. J. Med. 1996 ; 334 : 292-295.

## **■ V. PATHOLOGIES DE LA THYROÏDE**

---

### **V.1- Biochimie et physiologie**

#### ***V.1.1- Fonction de la thyroïde et son contrôle***

La thyroïde a pour fonction de synthétiser les hormones thyroïdiennes. L'unité fonctionnelle pour cette synthèse est le follicule thyroïdien. Celui-ci est formé en son centre d'une masse colloïde contenant la thyroglobuline, entourée d'une couche de cellules épithé-

liales, puis d'une membrane basale. Cette structure est le lieu de synthèse des hormones thyroïdiennes. Un second type cellulaire est constitué par les cellules C ou claires, dérivées de la crête neurale et situées entre les cellules folliculaires et la membrane basale. Ces cellules sont le lieu de synthèse de la thyrocalcitonine. La taille et l'aspect du follicule thyroïdien dépendent de la sécrétion de la thyrostimuline hypophysaire (TSH).

En effet, la synthèse et la sécrétion des hormones thyroïdiennes sont contrôlées par le système hypothalamo-hypophysaire (Tableau I). L'hypothalamus sécrète le thyrotropin releasing hormone ou factor (TRH ou TRF). Lorsqu'il est administré à dose physiologique, il stimule la libération par l'antéhypophyse de TSH et de prolactine. La TSH contrôle la synthèse et la sécrétion des hormones thyroïdiennes, triiodothyronine (T3) et thyroxine (T4). La TSH agit en développant le follicule thyroïdien, en augmentant le transport de l'iode et en activant les autres étapes de la synthèse des hormones thyroïdiennes. Son action passe essentiellement par la stimulation de l'adénylate cyclase thyroïdienne.

**Tableau I. Contrôle des hormones thyroïdiennes**

Organe	Hormone
Hypothalamus	TRH ou TRF
Anté-hypophyse	TSH
Thyroïde	T4, T3, rT3

### V.1.2- Hormones thyroïdiennes

La thyroïde produit 100 % de la T4, 20 % de la T3 et 5 % de la reverse T3 (rT3). Celle-ci a une faible activité biologique. Le reste de T3 et rT3 viennent de la conversion de T4 au niveau du foie et du rein essentiellement. Ainsi 40 % de la T4 se transforme en T3. Dans le plasma, la fraction libre des hormones thyroïdiennes est faible. En effet, moins de 0,5 % circule sous forme libre. Le reste est lié à des protéines de transport : thyroxine-binding globulin (TBG), thyroxine-binding préalbumine (TBPA) et albumine. Les concentrations circulantes de T4 sont 50 à 100 fois plus élevées que celles de T3. Dans la quasi-totalité des cas, seul le dosage de T4 est nécessaire, celui de T3 n'apportant pas d'information complémentaire. Les concentrations normales chez l'enfant sont de 50 à 120 (moyenne 80) ng/ml pour T4 totale et de 10 à 20 pmol/l pour la T4 libre (T4 L). Les hormones thyroïdiennes traversent la membrane cellulaire et se lient à des récepteurs essentiellement nucléaires. L'affinité de T3 pour le récepteur est beaucoup plus grande que celle de T4.

## V.2- Hypothyroïdies

La spécificité de l'hypothyroïdie de l'enfant par rapport à celle de l'adulte vient de la nécessité des hormones thyroïdiennes pour le développement du système nerveux durant les deux premières années de vie et pour la croissance staturale. La concentration plasmatique de TSH est augmentée dans les formes périphériques et normale ou basse dans les formes

**Tableau II. Principales étiologies de l'hypothyroïdie de l'enfant**

1. Congénitale <ul style="list-style-type: none"> <li>1.1. Périphérique               <ul style="list-style-type: none"> <li>ectopie</li> <li>athyréose</li> <li>glande en place (troubles de l'hormonosynthèse, autres)</li> <li>transitoire du nouveau né</li> </ul> </li> <li>1.2. Centrale               <ul style="list-style-type: none"> <li>insuffisance hypothalamo-hypophysaire</li> </ul> </li> </ul>
2. Acquis <ul style="list-style-type: none"> <li>2.1. Périphérique               <ul style="list-style-type: none"> <li>thyroïdite auto-immune</li> <li>anomalies congénitales à expression tardive</li> <li>irradiation cervicale</li> <li>goître endémique (carence en iode)</li> <li>surcharge (thalassémie...)</li> </ul> </li> <li>2.2. Centrale               <ul style="list-style-type: none"> <li>insuffisance hypothalamo-hypophysaire</li> <li>idiopathique, tumorale ou après irradiation crânienne</li> </ul> </li> </ul>

centrales (Tableau II). Dans les formes centrales, un test au TRH est nécessaire au diagnostic. Il montre une augmentation insuffisante de la TSH lorsque l'atteinte est hypophysaire et une réponse ample et prolongée de la TSH lorsque l'atteinte est hypothalamique.

### ***V.2.1- Hypothyroïdie congénitale***

Elle est le plus souvent périphérique. Deux facteurs ont conduit à mettre en place un dépistage néonatal systématique de l'hypothyroïdie (depuis 1977 en France) : la fréquence élevée de l'hypothyroïdie congénitale (1/4 000 naissances) et l'importance d'un diagnostic et d'un traitement les plus précoces possibles pour éviter le retard du développement psychomoteur. Cependant, bien que le dépistage systématique couvre presque 100 % des naissances, les signes cliniques de l'hypothyroïdie congénitale doivent être connus et ce pour les raisons suivantes : le dépistage ne permet pas le diagnostic de l'hypothyroïdie centrale ; il ne couvre pas tous les nouveau-nés du monde ; certains cas échappent au dépistage (erreur technique ou expression tardive). L'hormone mesurée pour le dépistage est, selon les pays, la TSH ou la T4. Certains pays mesurent les deux hormones mais ceci accroît le coût du dépistage. Le dosage de TSH a pour inconvénient de méconnaître les hypothyroïdies d'origine centrale, mais celles-ci sont beaucoup plus rares que les hypothyroïdies d'origine périphérique. Le dosage de T4 permet, en théorie, de dépister les deux types d'hypothyroïdie. Cependant, certains enfants ayant une hypothyroïdie par ectopie de la glande thyroïde ont une T4 maintenue dans la zone normale basse grâce à une hyperstimulation de la thyroïde par la TSH. Dans cette situation, l'hypothyroïdie risque d'être méconnue par le dépistage si on ne mesure que la T4.

En France, le dépistage est fait par le dosage de la TSH. Il utilise le réseau et le papier buvard du prélèvement sanguin fait au talon avant la sortie du nouveau-né de la maternité pour le dépistage de la phénylcétonurie. En fonction de la concentration de TSH, on se trouve devant une des situations suivantes : inférieure à 30 mU/l signifie fonction thyroïdienne normale ; 30 à 50 mU/l, un deuxième prélèvement est demandé pour deuxième dosage ; supérieure à 50 mU/l, le nouveau-né est convoqué pour examens clinique et complémentaire.

Dans la période néonatale, les signes cliniques sont le plus souvent limités à une prolongation de l'ictère néonatal, une hypotonie axiale et une fontanelle postérieure encore ouverte et trop large. Dans les premières semaines de vie, les signes ne sont pas spécifiques mais c'est leur association à des degrés divers qui permet d'évoquer le diagnostic : hypotonie axiale, difficultés à boire, macroglossie, constipation, ballonnement abdominal avec hernie ombilicale, infiltration des muqueuses responsable de la raucité du cri, enfant trop sage qui ne réclame pas ses biberons et qui dort trop. En l'absence de traitement, le tableau se complète par une insuffisance de croissance staturale avec retard de maturation osseuse et par un retard du développement psychomoteur. La radiographie d'un genou de face permet d'avancer dès la première consultation vers le diagnostic, en attendant le résultat des dosages biologiques. En effet, les points d'ossification fémoral inférieur et tibial supérieur (appelés points de Beclard) sont visibles chez le nouveau-né à terme. Leur non visibilité dans ce contexte est très en faveur du diagnostic d'hypothyroïdie. Le dosage sanguin confirme l'hypothyroïdie congénitale périphérique en montrant des concentrations de TSH augmentées et de T4 basses.

Le diagnostic étiologique de l'hypothyroïdie congénitale périphérique est basé sur le résultat de la cartographie thyroïdienne obtenue par scintigraphie (à l'iode 123 ou au

Technétium). De 1977 à 1988 et dans le cadre de l'association française pour le dépistage et la prévention des handicaps de l'enfant, 1 895 cas ont été dépistés en France. La distribution des étiologies est la suivantes : ectopie 50 %, athyréose 26 %, glande en place 16 % ; 8 % des enfants n'ont pas eu de scintigraphie. La cause de la dysgénésie thyroïdienne (ectopie, athyréose) n'est pas connue. Parmi les hypothyroïdies avec glande en place, la moitié environ est due à un trouble de l'hormonosynthèse thyroïdienne. L'autre moitié reste de mécanisme inconnu en dehors de quelques cas d'hypothyroïdie due à une anomalie du gène du récepteur de la TSH. Les troubles de l'hormonosynthèse se transmettent sur le mode autosomique récessif ; un goître est fréquent.

Le traitement consiste en l'administration à vie de T4 (L-Thyroxine, 1 goutte = 5 µg ou gamma, puis Levothyrox, comprimés, existe en plusieurs dosages). Il est administré en une prise quotidienne. La surveillance se fait sur les données cliniques (évolution de la croissance staturo-pondérale, fréquence cardiaque) et sur les concentrations circulantes de T4 et de TSH. Il est essentiel que le traitement soit débuté le plus tôt possible et régulièrement ajusté.

L'hypothyroïdie centrale est beaucoup plus rare que l'hypothyroïdie périphérique. L'insuffisance en TSH fait partie d'une insuffisance anté-hypophysaire incluant l'hormone de croissance dans tous les cas. L'imagerie par résonance magnétique montre souvent un syndrome d'interruption de la tige pituitaire.

### ***V.2.2- Hypothyroïdie acquise***

Elle est définie comme le développement d'une hypothyroïdie chez un enfant antérieurement euthyroïdien. Le tableau clinique dépend de l'importance de l'hypothyroïdie. Le signe le plus évocateur est le ralentissement de la vitesse de croissance en taille, surtout s'il est associé à une prise de poids. L'âge au ralentissement est un indicateur du début de l'hypothyroïdie. Les autres signes sont : asthénie, constipation, frilosité, diminution des performances scolaires. A l'examen clinique, il y a souvent une bradycardie. La présence d'un goître dépend de l'étiologie de l'hypothyroïdie. L'âge osseux, évalué sur la radiographie de la main et du poignet gauches de face par comparaison avec l'atlas de Greulich et Pyle, est inférieur à l'âge chronologique (écart souvent supérieur à 2 ans).

Elle peut être secondaire à une anomalie congénitale à expression tardive, ou beaucoup plus souvent à une anomalie acquise de la thyroïde. Parmi les étiologies des hypothyroïdies périphériques de l'enfant (Tableau II), la plus fréquente est la thyroïdite de Hashimoto, avec présence d'anticorps antithyroïdiens circulants de type antithyroglobuline et antimicrosomaux. L'insuffisance acquise en TSH fait partie, comme dans les formes congénitales, d'une insuffisance anté-hypophysaire incluant l'hormone de croissance dans tous les cas. Parmi les causes d'hypothyroïdie centrale acquise, citons les tumeurs de cette région, en particulier le craniopharyngiome et l'irradiation du crâne.

### ***V.3- Hyperthyroïdies***

L'hyperthyroïdie est plus rare chez l'enfant que chez l'adulte. Chez l'enfant, elle est le plus souvent de type auto-immun, et exceptionnellement due à un nodule thyroïdien. L'hyperthyroïdie du nouveau-né survient dans un contexte particulier (2).



### ***V.3.1- Hyperthyroïdie d'origine auto-immune***

Elle est aussi appelée goître diffus toxique ou « Graves'disease ». Chez l'enfant, elle s'apparente par un certain nombre de caractéristiques à la maladie de Basedow de l'adulte. Elle pose un problème thérapeutique en raison des problèmes posés par l'utilisation de l'iode radioactif. Elle est 7 à 8 fois plus fréquente chez les filles que chez les garçons et elle débute rarement avant l'âge de 10 ans.

Les anticorps sont des immunoglobulines ayant la capacité de stimuler la thyroïde. Ceci est dû au fait que ces anticorps ont la capacité de se lier au récepteur de la TSH situé sur la membrane des cellules thyroïdiennes. Cette liaison stimule l'adénylate cyclase, de la même manière que la TSH, d'où l'hyperthyroïdie. Ces anticorps sont appelés thyroïde receptor antibodies (TRAb) ou thyroïde récepteur anticorps (TRAc). Elle atteint une population ayant une fréquence familiale de pathologie thyroïdienne supérieure à celle de la population générale. De même, elle peut être associée à d'autres pathologies auto-immunes telles que le diabète insulino-dépendant, la maladie d'Addison ou la thyroïdite de Hashimoto. Dans cette dernière situation, la concentration plasmatique d'anticorps antithyroglobuline et antimicrosomaux est élevée.

Les signes révélateurs les plus fréquents sont : modification du comportement avec nervosité, diminution des performances scolaires, troubles du sommeil, diarrhée et perte de poids. Les signes physiques les plus fréquents sont tachycardie, hypertension et goître. Il y a souvent une accélération de la vitesse de croissance staturale. Le diagnostic d'hyperthyroïdie périphérique est confirmé par la concentration plasmatique augmentée de T4 et la concentration basse, souvent nulle, de TSH. Une fois le diagnostic d'hyperthyroïdie périphérique fait, il faut rechercher son étiologie. Le caractère diffus du goître est en faveur de la thyroïdite auto-immune. Il est confirmé par l'échographie, et la scintigraphie n'est pas nécessaire. Les anticorps antirécepteurs de la TSH sont présents dans 93 % des cas. Leur concentration diminue sous traitement. Ils ont une valeur dans le diagnostic de la maladie active et dans la décision d'arrêt du traitement.

L'objectif du traitement est de réduire la production et les effets périphériques des hormones thyroïdiennes (3). Les possibilités thérapeutiques sont les antithyroïdiens, la thyroïdectomie chirurgicale et l'iode radioactif. Les antithyroïdiens sont le traitement le plus utilisé et prescrit en premier chez l'enfant. Il s'agit essentiellement de carbimazole (Néomercazole®, 1 cp = 5 mg). Ils peuvent entraîner une neutropénie, surtout au début du traitement. Il convient donc de vérifier la numération formule sanguine. La dose initiale de Néomercazole® est de 20 mg/m<sup>2</sup>. Elle peut ensuite être rapidement diminuée jusqu'à une dose d'entretien, obtenue au bout d'environ un an, se situant entre la moitié et le tiers de la dose initiale. Le problème est la durée du traitement. En effet, les tentatives d'arrêt sont souvent suivies de rechute. Un changement de traitement est discuté dans les circonstances suivantes : survenue d'un effet indésirable majeur des antithyroïdiens (neutropénie) ou goître volumineux remanié. Une thyroïdectomie subtotale ou totale est alors indiquée. Elle entraîne une hypothyroïdie dans la majorité des cas. De plus, elle expose au risque d'hypoparathyroïdie permanente. L'iode radioactif n'est pas utilisé en France pour traiter l'hyperthyroïdie de l'enfant

### ***V.3.2- Nodule thyroïdien***

Cette situation est très rare chez l'enfant et chez l'adolescent. Il peut s'agir d'un nodule unique ou d'un goître multi-nodulaire. La plupart de ces nodules sont des adénomes fol-

liculaires et sont bénins. Le diagnostic de nodule est fait sur la scintigraphie thyroïdienne. Celle-ci montre un nodule fixant l'iode radioactif alors qu'au niveau du reste de la glande, la fixation est faible voire nulle. Le traitement est l'exérèse chirurgicale du nodule.

## RÉFÉRENCES

- 1- BRAUNER R., FONTOURA M. Pathologie de la glande thyroïde chez l'enfant. Editions techniques. Encycl. Méd. Chir. (Paris, France) Pédiatrie, 4-105-A-10, 1995.
- 2- THIBAUT H., BRETON D., BRAUNER R. Hyperthyroïdie néonatale transitoire par transfert transplacentaire d'anticorps antirécepteurs de la thyrostimuline hypophysaire. Arch. Fr. Pediatr. 1993 ; 50 : 581-583.
- 3- THIBAUT H., CLAUSSE-MOYSOULIER D., BRAUNER R. Traitement de l'hyperthyroïdie de l'enfant par les antithyroïdiens. Ann. Pediatr. 1993 ; 40 : 341-347.

## ■ VI. PATHOLOGIES DES CORTICOSURRÉNALES

---

Les deux glandes corticosurrénales produisent des glucocorticoïdes (cortisol), des minéralocorticoïdes (aldostérone) et des stéroïdes sexuels (testostérone et estradiol). Les glucocorticoïdes et les minéralocorticoïdes sont nécessaires à la survie. La sécrétion de cortisol est contrôlée par l'adréno-corticotropin-hormone (ACTH), sécrétée par l'anté-hypophyse, elle-même contrôlée par le corticotropin-releasing factor (CRF), sécrété essentiellement par l'hypothalamus. La sécrétion d'aldostérone est contrôlée par la natrémie, la kaliémie et la rénine. La pathologie surrénalienne la plus fréquente chez l'enfant est l'hyperplasie congénitale des surrénales (HCS, 2).

### **VI.1- Insuffisance surrénalienne**

L'insuffisance surrénalienne aiguë est une urgence diagnostique et thérapeutique. Les caractéristiques propres à l'enfant sont : 1) l'étiologie, puisque la première cause d'insuffisance surrénalienne aiguë est l'HCS ; 2) le pronostic car l'insuffisance surrénalienne aiguë fait courir un risque vital, en particulier chez le nouveau-né. L'HCS est une affection récessive autosomique dont la fréquence est de 1/8 000. Son dépistage néonatal est fait de manière systématique.

#### ***VI.1.1- Etiologies***

L'insuffisance surrénalienne peut être d'origine centrale, hypothalamo-hypophysaire ou périphérique surrénalienne. Dans chacun des deux groupes, elle peut être congénitale ou acquise. La concentration plasmatique d'ACTH permet de distinguer les insuffisances surrénaliennes centrales (ACTH normale ou basse), des insuffisances surrénaliennes périphériques (ACTH augmentée).

#### *VI.1.1.1- Centrale*

L'insuffisance en ACTH est, dans la quasi-totalité des cas, associée à une insuffisance en d'autres hormones hypophysaires, en particulier en hormone de croissance. L'insuffisance hypophysaire peut être soit idiopathique, soit secondaire à une tumeur en particulier à un craniopharyngiome. Chez le nouveau-né et le jeune enfant, l'insuffisance en ACTH et/ou l'insuffisance en hormone de croissance peuvent se manifester par une hypoglycémie. Dans les formes centrales, il n'y a pas de syndrome de perte de sel.

#### *VI.1.1.2- Périphérique*

Elle est le plus souvent secondaire à un bloc sur la synthèse surrénalienne du cortisol, bloc lié à un déficit enzymatique. Ce bloc est responsable d'une diminution de la sécrétion de cortisol, diminution qui est responsable d'une augmentation de la sécrétion d'ACTH. Cette augmentation entraîne une HCS et une hyperproduction des hormones surrénaliennes qui ne nécessitent pas l'enzyme déficitaire (en particulier testostérone et  $\Delta 4$  androstènedione). Le déficit enzymatique le plus fréquent est le déficit en 21-hydroxylase qui crée une insuffisance en glucocorticoïdes (cortisol) et souvent une insuffisance en minéralocorticoïdes (aldostérone). Ce type d'insuffisance surrénalienne se révèle le plus souvent dans la période néonatale. Les formes d'expression tardive se révèlent par une pilosité pubienne et/ou une accélération staturale. Elles exposent moins au risque d'insuffisance surrénalienne. Les autres déficits enzymatiques sont les déficits en 11-hydroxylase et en 3 $\beta$  ol déshydrogénase.

Les autres causes d'insuffisance surrénalienne sont plus rares :

- hypoplasie congénitale des surrénales,
- association d'une insuffisance surrénalienne à une hypoparathyroïdie et à une candidose chronique, évoquant une pathologie auto-immune,
- adrénoleucodystrophie avec l'association à une symptomatologie neurologique,
- arrêt d'une corticothérapie prolongée.

Certaines insuffisances surrénaliennes portent uniquement sur la synthèse des minéralocorticoïdes : hypoaldostéronisme ou résistance congénitale à l'aldostérone.

#### *VI.1.2- Diagnostic*

Nous analyserons l'insuffisance surrénalienne du nouveau-né secondaire à un déficit en 21-hydroxylase. Les manifestations cliniques et biologiques sont secondaires à :

- l'insuffisance en glucocorticoïdes qui peut donner une hypotension artérielle, voire un collapsus cardio-vasculaire ;
- l'insuffisance en minéralocorticoïdes qui donne un syndrome de perte de sel dans les urines et participe au collapsus. Normalement l'élimination urinaire de sodium s'annule lorsque la natrémie baisse en-dessous de 132 mmol/l. Dans les syndromes de perte de sel, il persiste du sodium dans les urines alors que la natrémie est inférieure à ce niveau. L'hyponatrémie est associée à une hyperkaliémie, à une hypercalcémie et à une hypoglycémie.
- chez le fœtus féminin, il y a une virilisation des organes génitaux externes, virilisation secondaire à la dérivation de la synthèse surrénalienne vers la voie des androgènes (testostérone). Le degré de cette virilisation est variable allant d'une simple hypertrophie du clitoris (Prader I) à un aspect complètement masculinisé des organes génitaux externes

(Prader V) . L'élément qui guide vers le diagnostic chez ce nouveau-né qui a des organes génitaux d'aspect masculin est l'absence de testicule palpable dans les bourses donnant un aspect « d'ectopie testiculaire ». Le diagnostic d'HCS par déficit en 21-hydroxylase est fait par la mesure de la concentration plasmatique de 17OH progestérone. La concentration de ce métabolite surrénalien est très élevée ( $> 2$  ng/ml) car il est situé en amont du bloc.

En dehors de la période néonatale, les éléments évocateurs d'insuffisance surrénalienne sont fatigabilité, amaigrissement, douleurs abdominales, hypotension artérielle, pigmentations cutanée et muqueuse.

### **VI.1.3- Traitement**

L'insuffisance surrénalienne aiguë est une urgence thérapeutique. Dès le prélèvement sanguin fait (17OH progestérone, ACTH, cortisol et activité rénine), il faut débiter le traitement par voie injectable. Une fois la phase aiguë passée, le traitement est donné par voie orale et comporte :

- glucocorticoïde : Hydrocortisone® (cp 10 mg), 10 à 25 mg/m<sup>2</sup>/24 h, en 2 à 3 prises ;
- minéralocorticoïdes : Florinef® (cp 50 gamma = µg), 30 à 200 µg/24 h en 2 prises ;
- un supplément de 2 grammes de NaCl/24 h jusqu'à l'âge de 1 à 2 ans.

Ce traitement ne doit pas être interrompu. Il doit être régulier. Une carte est donnée aux familles indiquant le risque d'insuffisance surrénalienne aiguë et les modifications à apporter au traitement en cas de problème aigu intercurrent : 1) doubler la dose d'Hydrocortisone® durant l'épisode aigu, s'il n'y a pas de trouble digestif ; 2) remplacer la voie orale par la voie injectable en cas de diarrhée, de vomissement ou d'intervention chirurgicale. Lorsque l'HCS a induit une virilisation d'un fœtus féminin, une plastie féminine est ultérieurement nécessaire.

Le traitement doit être régulièrement adapté car un sous-dosage expose au risque d'insuffisance surrénalienne aiguë. En effet, celle-ci peut être révélatrice, être déclenchée par un événement intercurrent ou être favorisée par un sous-dosage thérapeutique. L'événement déclenchant peut être une intervention chirurgicale, une affection aiguë, des troubles digestifs à type de diarrhée ou de vomissement.

En conclusion, le diagnostic d'insuffisance surrénalienne est à évoquer devant tout nouveau-né ayant : un syndrome de perte de sel dans les urines, une hypoglycémie, une hypotension artérielle, une intersexualité ou des organes génitaux externes masculins sans testicule palpé. Chez l'enfant, l'insuffisance surrénalienne doit être évoquée en cas d'insuffisance hypophysaire idiopathique ou tumorale. Elle doit être recherchée et traitée en pré- et en post-opératoire chez tout enfant opéré d'une anomalie de la région hypothalamo-hypophysaire et en particulier d'un craniopharyngiome. Lorsque le diagnostic d'insuffisance surrénalienne est probable, il faut démarrer le traitement après avoir fait les prélèvements sanguins, quitte à l'arrêter ultérieurement si le diagnostic est différent.

## **VI.2- Hypercorticisme**

### **VI.2.1- Diagnostic**

L'hypercorticisme peut être d'origine centrale, hypothalamo-hypophysaire, ou périphérique surrénalienne (1). La concentration plasmatique d'ACTH permet de distinguer les

hypercorticismes d'origine centrale (ACTH augmentée), des hypercorticismes périphériques (ACTH abaissée).

Les éléments cliniques en faveur d'un hypercorticisme sont : prise pondérale excessive avec distribution facio-tronculaire, douleurs dorsales, hypertension artérielle, et vergetures pourpres. Le surpoids est évocateur par son association à un ralentissement de la vitesse de croissance staturale, ralentissement responsable d'un changement de couloir de croissance.

Les étapes du diagnostic sont : confirmer l'hypercorticisme, déterminer son origine centrale ou périphérique, puis son étiologie. Les arguments biologiques en faveur de l'hypercorticisme sont : l'augmentation de la cortisolurie des 24 heures (norme < 50 µg) et la perte du cycle nyctéméral du cortisol. Ainsi, le cortisol à minuit reste élevé. La concentration plasmatique d'ACTH permet d'orienter la recherche de l'étiologie vers une origine centrale, hypothalamo-hypophysaire, ou périphérique, surrénalienne.

### **VI.2.2- Etiologies**

L'adénome hypophysaire sécrétant de l'ACTH est très rare chez l'enfant. Il se manifeste par un tableau d'hypersecretion isolée de glucocorticoïdes. L'imagerie par résonance magnétique de la région hypothalamo-hypophysaire permet en règle de visualiser l'adénome. Le traitement est l'exérèse par voie trans-sphénoïdale. Le risque est l'apparition de déficits hypophysaires et la récurrence de l'hypercorticisme.

L'hypercorticisme d'origine périphérique peut-être secondaire à une adénomatosé diffuse ou à une tumeur type corticosurrénoalome. Dans ce cas, la tumeur sécrète des glucocorticoïdes, mais aussi des androgènes et des estrogènes. Le tableau clinique comporte, outre les signes d'hypercorticisme, des signes d'hyperandrogénie et/ou d'hyperestrogénie. L'exploration se fait par l'imagerie des surrénales. Le traitement est l'exérèse chirurgicale, au besoin complétée par une chimiothérapie.

**Tableau I. Examens complémentaires dans l'insuffisance surrénalienne**

1. Diagnostic cortisol plasmatique à 8 h natrémie, kaliémie, natriurèse concomitante, aldostérone, activité rénine test à l'ACTH dans les formes partielles
2. Etiologie ACTH 17OH progestérone, 11 desoxycortisol
3. Suivi sous traitement de l'HCS dose de glucocorticoïdes : 17OH progestérone, Δ4 androstène dione, testostérone dose de minéralocorticoïdes : activité rénine

**Tableau II. Examens complémentaires dans l'hypercorticisme**

1. Diagnostic cortisolurie des 24 h, cycle du cortisol
2. Etiologie ACTH test à la dexaméthasone androgènes et estrogènes imagerie hypothalamo-hypophysaire ou des surrénales

## RÉFÉRENCES

- 1- ORTH D.N. Cushing's syndrome. N. Engl. J. Med. 1995 ; 332 : 792-803.
- 2- ROOT W. Neonatal screening for 21-hydroxylase deficient congenital adrenal hyperplasia. The role of CYP21 analysis. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1999 ; 84 : 1503-1504.

## ■ VII. SYNDROME POLYURO-POLYDIPSIQUE

---

La polyuro-polydipsie peut être de type insipide ou être secondaire à une glycosurie dans le cadre d'un diabète sucré. L'absence de sucre dans les urines exclut un diabète sucré à l'origine de la polyurie. Nous n'envisagerons ici que le diabète insipide.

### VII.1- Hormone antidiurétique et régulation de l'eau

#### *VII.1.1- Hormone antidiurétique*

Elle est aussi appelée arginine vasopressine (AVP) ou vasopressine. Cette dénomination vient du fait que, chez la majorité des mammifères, l'acide aminé en position 8 est l'arginine. L'AVP est faite de 9 acides aminés. Elle est synthétisée au niveau des noyaux supra-optiques et para-ventriculaires de l'hypothalamus. Puis elle est mise, avec son transporteur la neurophysine, sous forme de granules neurosecrétaires puis transportée au niveau du tractus supra-optico-hypophysaire vers la post-hypophyse où elle est stockée. Des modifications de la composition de l'AVP en acides aminés conduisent à des modifications de son action. Ainsi est fait 1-déamino-8-D-arginine (DDAVP, desmopressine, Minirin®) utilisé pour traiter le diabète insipide. Les deux modifications conduisent à une suppression de l'action hypertensive et à une augmentation de la durée d'action de l'AVP. L'AVP agit sur le métabolisme de l'eau par un effet au niveau du rein : elle permet la formation du gradient cortico-papillaire et elle rend perméable à l'eau le tube collecteur.

#### *VII.1.2- Régulation de l'eau*

L'osmolalité plasmatique est normalement maintenue stable avec des valeurs comprises entre 280 et 290 mosm/kg. Cette stabilité est maintenue grâce à un équilibre entre les entrées d'eau contrôlées par la soif et les sorties d'eau contrôlées par l'AVP. Ainsi les volumes d'eau ingérée et éliminée varient et l'osmolalité urinaire varie de 50 à 1 300 mosm/kg. Le centre de la soif siège au niveau de l'hypothalamus. Le contrôle de la soif et celui de la sécrétion d'AVP passent par les mêmes mécanismes. Ils se font par l'intermédiaire des osmo, des baro et des volorécepteurs. Les osmorécepteurs sont situés dans l'hypothalamus antérieur, les barorécepteurs dans la crosse de l'aorte et le sinus carotidien et les volorécepteurs dans la paroi de l'oreille gauche. L'augmentation de l'osmolalité du milieu extracellulaire, la diminution de la pression ou du volume du sang entraînent une augmentation de la sécrétion d'AVP et une sensation de soif.

### VII.2- Expression clinique

#### *VII.2.1- Nouveau-né et nourrisson*

La polyurie est souvent méconnue par l'entourage. Les signes cliniques traduisent la déshydratation chronique : fièvre inexplicquée, anorexie, constipation, agitation. La déshydratation chronique entraîne un ralentissement de la prise pondérale puis staturale. Elle expose à des accidents neurologiques.

### VII.2.2- *Enfant et adulte*

Le début de la polyuro-polydipsie est souvent brutal. L'importance de la polyurie varie selon l'importance du trouble de concentration et selon la quantité de déchets osmotiques à éliminer, donc selon le régime. Elle entraîne des levers nocturnes, une énurésie chez l'enfant d'âge intermédiaire, une anorexie et parfois des troubles du comportement.

Les signes associés dépendent de l'étiologie du diabète insipide : signes d'hypertension intracrânienne ou troubles visuels secondaires à certaines tumeurs, ralentissement de la vitesse de croissance staturale en cas d'insuffisance anté-hypophysaire associée à l'insuffisance post-hypophysaire, signes généraux d'une histiocytose ou d'une sarcoïdose, signes rénaux dans certains diabète insipide rénaux.

### VII.3- Diagnostic

L'absence de sucre dans les urines exclut un diabète sucré à l'origine de la polyurie. La mesure de la diurèse spontanée des 24 h confirme la polyurie et évalue son importance. La diurèse quotidienne normale dépend de la quantité d'eau absorbée. Elle est < 0,5 litre avant l'âge de 1 an puis augmente jusqu'au tour de 1,5-2 litres. L'objectif des examens est de montrer qu'il y a un trouble de concentration des urines, puis de savoir s'il est sensible à l'AVP.

#### VII.3.1- *Diagnostic de trouble de concentration des urines (Tableau I)*

*Tableau I. Diagnostic de trouble de concentration des urines*

Situation	Osm plasma mosm/kg	Na <sup>+</sup> mmol/l	Osm urinaire mosm/kg	Conclusion
basale	> 300	> 145	< 700	troubles concentration urines
	280-290	< 145	> 800	normal
restriction* hydrique	280-290	< 145	< 800	non concluant
	idem			

\* arrêter si perte de poids > 5 %, osm plasmatique > 300 ou urinaire > 800 mosm/kg, durée > 12 h  
 Si conclusion difficile : doser l'AVP en hyperosmolalité.

L'osmolalité plasmatique doit être comparée à l'osmolalité urinaire sur la miction concomitante et non sur un échantillon d'urines collecté sur plusieurs heures. La mesure de la natrémie concomitante confirme le niveau de l'osmolalité plasmatique. Dans certains cas, l'évaluation en situation basale permet de conclure. Le plus souvent, une épreuve de restriction hydrique, obligatoirement faite sous surveillance médicale en hospitalisation, est nécessaire.

#### VII.3.2- *Diagnostic de pitresso-sensibilité*

L'administration d'AVP est faite en situation d'hyperosmolalité (basale ou en fin de restriction hydrique). Une petite dose d'AVP, fonction du poids du patient, est administrée. Parallèlement et en cas de soif importante, le patient est autorisé à boire une petite quantité d'eau. Le diabète insipide est :

- pitresso-sensible (= central, par carence d'AVP) si l'osmolalité urinaire mesurée 2 à 4 h après l'administration d'AVP augmente de 50 % ;
- pitresso-résistant (= rénal, par résistance à l'AVP) si l'osmolalité urinaire n'augmente pas de manière significative.

La polydipsie primaire pose des problèmes diagnostiques avec le diabète insipide central. Théoriquement, la distinction entre polyurie primaire et polydipsie primaire est facile sur la capacité à concentrer les urines qui est normale dans la polydipsie primaire. Cependant, une polyurie prolongée peut perturber la capacité des reins à concentrer les urines. Une épreuve de restriction hydrique par paliers permet alors le diagnostic. Les étiologies de la polydipsie primaire sont : 1) polydipsie psychogène ou potomanie, 2) polydipsie induite par un apport liquidien trop élevé dès le jeune âge, 3) certaines tumeurs, en particulier des germinomes, qui altèrent le fonctionnement du centre de la soif.

## VII.4- Etiologies et traitement (Tableau II)

*Tableau II. Etiologies du diabète insipide*

<p>1. Central ou pitresso-sensible</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- post-chirurgie de la région hypothalamo-hypophysaire, en particulier craniopharyngiome</li> <li>- tumeurs (30 % des diabètes insipides centraux) en particulier germinome du plancher du 3<sup>e</sup> ventricule et craniopharyngiome</li> <li>- histiocytose</li> <li>- sarcoïdose</li> <li>- séquelles de traumatisme ou de méningite</li> <li>- familial</li> </ul>
<p>2. Rénal ou pitresso-résistant</p> <p>2.1. Isolé, appelé néphrogénique</p> <p>2.2. Associé à d'autres signes d'atteintes rénales</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- uropathies</li> <li>- malformations</li> <li>- néphronophtise</li> <li>- tubulopathie proximale dans le cadre d'un syndrome de Toni-Debré-Fanconi primitif ou secondaire (en particulier à la cystinose)</li> <li>- acidose tubulaire distale</li> <li>- syndrome de Bartter</li> <li>- hypercalciurie idiopathique</li> </ul>

### VII.4.1- Diabètes insipides centraux ou pitresso-sensibles

#### VII.4.1.1- Etiologies

Le diagnostic étiologique est le principal problème posé par les diabètes insipides centraux. En effet, rapporter un diabète insipide à une étiologie est facile lorsqu'il survient après une intervention chirurgicale sur la région hypothalamo-hypophysaire, après un traumatisme cranien ou chez un patient ayant une histiocytose connue. Lorsqu'il paraît isolé, un examen neuroradiologique et une évaluation de la fonction anté-hypophysaire sont faits de manière systématique. Lorsque l'imagerie par résonance magnétique montre une image anormale de la région hypothalamo-hypophysaire, celle-ci fait discuter sa nature et ses indications thérapeutiques. Lorsque l'examen ne montre pas d'anomalie, le diabète insipide peut être soit idiopathique, soit secondaire à une histiocytose ou à une tumeur non encore visible. Le diagnostic de diabète insipide idiopathique doit rester un diagnostic d'exclusion. En effet, une tumeur du plancher du 3<sup>e</sup> ventricule, type germinome, peut devenir visible seulement plusieurs mois, voire années, après le début du diabète insipide.

#### VII.4.1.2- Traitement

Ses objectifs sont : supprimer les levers nocturnes, permettre une scolarité et une vie normale. Il est basé sur le DDAVP (Minirin®) en administration par cathéter nasal (100 µg/ml), en spray nasal ou en comprimés (cp à 0,1 et 0,2 mg). C'est un traitement efficace, simple, sans effet secondaire. La plupart des patients sont équilibrés par 2 administrations quotidiennes.



## **VII.4.2- Diabète insipides rénaux ou pitresso-résistants**

### **VII.4.2.1- Etiologies**

#### *a) Diabète insipide isolé*

Il est appelé néphrogénique. Il se transmet le plus souvent selon le mode récessif, lié au sexe avec une pénétrance variable chez les filles. Les garçons ont donc souvent une forme plus sévère que les filles. Les premiers symptômes apparaissent très souvent dès les premiers jours de vie et chez certains lors de l'arrêt de l'allaitement maternel lorsque la charge osmotique s'accroît brutalement.

#### *b) Diabète insipide associé à d'autres signes d'atteinte rénale*

L'atteinte peut porter seulement sur le tubule (troubles de concentration des urines et hydro-électrolytique) ou sur le tubule et le glomérule (créatininémie et azotémie augmentées, présence de protéinurie et/ou d'hématurie).

### **VII.4.2.2- Traitement**

Les éléments du traitement sont : régime pauvre en résidus osmotiques (hyposodé, limité en potassium et en protéides) ; chez le nourrisson, le lait maternel est l'aliment de choix ; supplémentation hydrique, pouvant chez le nourrisson nécessiter un gavage gastrique à débit constant ; diurétiques thiazidiques ; inhibiteurs de la synthèse des prostaglandines, en particulier l'Indométhacine.

## **VII.5- Conduite pratique devant une polyuro-polydipsie**

Les étapes successives sont :

- 1) exclure un diabète sucré par la recherche de glycosurie,
- 2) confirmer la polyurie par la mesure de la diurèse des 24 h,
- 3) affirmer le trouble de concentration des urines par la comparaison des osmolalités plasmatique et urinaire après restriction hydrique contrôlée,
- 4) préciser s'il est sensible à l'administration d'AVP (central) ou résistant (rénal),
- 5) traiter.

Les difficultés peuvent venir de :

- 1) diagnostic entre origine centrale et origine rénale : la concentration plasmatique d'AVP mesurée en fin de restriction hydrique permet de les différencier (basse ou normale si central, augmentée si rénal)
- 2) diagnostic entre diabète insipide (polyurie primaire) et potomanie (polydipsie primaire) ; l'épreuve de restriction hydrique par paliers permet en principe de les distinguer. En cas de doute, un examen neuroradiologique permet d'exclure une tumeur hypothalamo-hypophysaire
- 3) la possibilité d'une tumeur intracrânienne non visible au premier examen neuroradiologique ; il est donc nécessaire de répéter cet examen si la recherche étiologique est négative.

## **RÉFÉRENCES**

- 1- MAGHNIE M., COSI G., GENOVESE E. et al. Central diabetes insipidus in children and young adults. N. Engl. J. Med. 2000 ; 343 : 998-1007.

## ■ I. EXAMENS SPÉCIALISÉS DANS LE DIAGNOSTIC DE DÉFICIT EN GH : DIFFICULTÉS TECHNIQUES ET D'INTERPRÉTATION

---

### I.1- Dosage de la GH

#### 1) Problèmes de spécificité des dosages

La GH est sécrétée par des cellules spécialisées de l'anté-hypophyse sous différentes formes moléculaires. La plus abondante (#90%) est une protéine de 191 acides aminés appelée GH 22 kDa (en raison de sa masse moléculaire de 22 000 daltons). Une autre forme, la GH 20 kDa est identique à la GH 22 kDa sans toutefois contenir les acides aminés 32 à 46. Cette forme minoritaire a une demi-vie plus longue que la GH 22 kDa. Dans la circulation, ces 2 formes peuvent se combiner en différents dimères et même polymères. De plus, environ la moitié de la GH monomérique est associée dans le sang à une protéine liante spécifique (la GH-binding protein ou GH-BP) qui correspond à la partie extra-cellulaire du récepteur de la GH. Cette hétérogénéité moléculaire peut donc avoir des conséquences sur les dosages de GH selon la spécificité des anticorps utilisés.

Avant de choisir une technique de dosage de la GH, il convient donc de connaître la nature des formes moléculaires reconnues. La tendance actuelle est de choisir un dosage spécifique exclusivement de la forme 22 kDa.

#### 2) Problèmes de standardisation.

Les dosages commerciaux aujourd'hui disponibles sont étalonnés contre au moins deux préparations étalons différentes de GH hypophysaire (extraite d'hypophyses de cadavres humains), le standard 66/217 (1 ng = 0.5 µU) et le standard 80/505 (1 ng = 0.4 µU officiellement mais les conversions proposées diffèrent d'un fabricant à un autre). Il existe un standard international de GH recombinante 22 kDa mais aucune trousse aujourd'hui ne l'utilise.

*Les 2 points notés ci-dessus ont pour conséquence un certain degré d'hétérogénéité entre les concentrations obtenues avec différentes trousse de dosage de la GH.*

#### 3) Problèmes liés aux tests de stimulation.

La demi-vie très courte (quelques minutes) de la GH dans le sang, ainsi que la pulsativité (irrégulière) de sa sécrétion, rendent peu informative la mesure de la GH sur un prélèvement ponctuel (on a toutes les chances de se retrouver à distance d'un « pulse » de sécrétion et donc d'obtenir une valeur basse). C'est pour cette raison qu'un certain nombre de tests de stimulation pharmacologique ont été développés. Ces agents pharmacologiques stimulent la sécrétion de GH soit en inhibant la production hypothalamique de somatostatine (insuline, arginine, ornithine et beta bloquants), soit en stimulant directement la production de GRF (clonidine, glucagon, L-Dopa). On dose la GH 15 minutes et immédiatement avant l'administration d'un de ces agents, puis à différents moments après cette

administration, suivant des protocoles bien codifiés. En France, on considère qu'un enfant a un déficit en GH s'il ne présente aucune valeur  $\geq 10$  ng/mL lors de 2 tests de stimulation différents (l'un des 2 tests doit être un test « couplé », c'est-à-dire associant 2 agents pharmacologiques, comme les tests « arginine-insuline » ou « glucagon-propranolol »).

Il existe toutefois plusieurs problèmes d'interprétation :

- Cette valeur seuil de 10 ng/mL ne prend pas en compte la nature du dosage (alors que des différences entre les valeurs mesurées par différentes techniques ont été rapportées voir plus haut).

- Elle ne prend pas non plus en compte le type de test, alors que la « puissance » des différents tests semble différente.

- L'existence d'un surpoids inhibe la sécrétion de GH et la capacité de réponse aux tests de stimulation, ce qui rend difficile l'interprétation de ces tests dans cette situation.

- La sécrétion de GH et la réponse aux tests de stimulation dépend de l'âge et surtout du développement pubertaire (elle augmente en cours de puberté sous l'influence des stéroïdes sexuels). Ceci n'est pas pris en compte par la valeur seuil de 10 ng/mL qui est utilisée quelque soit l'âge et le stade pubertaire de l'enfant. Il est en fait très fréquent de retrouver des pics de GH  $< 10$  ng/mL lors de 2 tests consécutifs chez des enfants non déficitaires en période dite « prépubertaire », et ceci est encore plus fréquent dans des situations de retard pubertaire (le retard statural dans un contexte de retard pubertaire chez le garçon est une cause fréquente d'explorations endocriniennes). En pratique, on peut surmonter ce problème en administrant préalablement au test de stimulation (et si cela est possible) de l'estradiol ou de la testostérone. Dans notre expérience, la pratique d'une épreuve de sécrétion spontanée de la GH pendant le sommeil (un prélèvement toutes les 20 minutes entre 22 heures et 6 heures) permet dans cette situation d'écarter un déficit en GH plus souvent que les tests de stimulation.

- Il est important de connaître la glycémie pendant le test de stimulation car une absence d'hypoglycémie pendant un test à l'insuline ou inversement une hyperglycémie (même très modérée) persistante pendant un autre type de test, compromet l'interprétation du test.

## I.2- Dosage d'IGF I

### 1) Problèmes techniques

Les techniques utilisées font appel à l'immunoanalyse (RIA ou autres). La principale difficulté du dosage d'IGF I est due à la présence des IGFBPs dont l'affinité pour l'IGF I (de l'ordre de  $10^{-9}$  à  $10^{-10}$  M<sup>-1</sup>) est très souvent supérieure à celle des anticorps anti-IGF I utilisés. Une phase de séparation est donc un pré-requis au dosage proprement dit. La méthode de référence pour cette séparation est une extraction en milieu acide suivie d'une chromatographie sur gel. C'est une méthode très performante mais lourde et difficile à appliquer en pratique quotidienne. Les alternatives les plus couramment utilisées sont :

- 1- une extraction simple dite « acide-éthanol » (en général suffisante pour les situations les plus courantes, mais parfois insuffisante lorsque les IGFBPs sont présentes en très grandes quantités comme dans l'acromégalie ou l'insuffisance rénale ) ;

2- un déplacement de l'IGF I lié aux IGF-BPs par l'addition dans l'échantillon (après acidification) d'un excès d'IGF II. Lorsqu'on revient ensuite à un pH neutre, les IGF-BPs sont saturées par l'IGF II et l'IGF I se retrouve alors sous forme libre. Cette méthode très élégante permet l'adaptation du dosage d'IGF I sur automate d'immuno-analyse. Il convient toutefois de vérifier que la quantité d'IGF II ajoutée excède très largement la capacité des IGF-BPs à lier les IGFs (on vérifie la bonne linéarité de dilutions en cascade de sérums contenant une grande quantité d'IGF-BPs, sérums d'acromégales et d'insuffisants rénaux. Dans le cas contraire on s'exposerait à une erreur par défaut) et que le ou les anticorps utilisés ne reconnaissent pas l'IGF II (dans le cas contraire on s'exposerait à une erreur par excès).

## 2) Problèmes d'interprétation

On mesure l'IGF I sur serum ou sur plasma EDTA. Un des intérêts du dosage d'IGF I est la stabilité de sa concentration sérique tout au long du nycthémère, ce qui rend informative une valeur obtenue sur un prélèvement ponctuel (contrairement au dosage de la GH).

L'IGF I est bas dans les vrais déficits en GH. Ceci est particulièrement vrai pour les formes familiales de déficit en GH ou dans les formes associées à un syndrome dit « d'interruption de la tige pituitaire » (diagnostic fait à l'IRM). Dans les déficits en GH secondaires à une tumeur de la région hypothalamo-hypophysaire ou à son traitement (chirurgie, irradiation), on trouve parfois des concentrations normales d'IGF I, surtout lorsqu'il existe un surpoids avec hyperinsulinisme. Autrement dit, une concentration normale d'IGF I est très peu en faveur d'un vrai déficit en GH non lié à une tumeur, mais n'exclut pas un déficit en GH lié à une tumeur. Dans le cas d'une concentration basse, il faut, avant de s'orienter vers un déficit en GH, exclure une maladie hépatique ou une dénutrition (causes classiques de concentrations basses d'IGF I).

On peut aussi doser l'IGF I dans le cadre d'un « test de génération d'IGF I ». Il s'agit de la mesure de la concentration sérique d'IGF I avant et après 4 injections d'hGH (une injection par jour administrée le soir, et dosage de l'IGF I le matin suivant la 4<sup>ème</sup> injection). Ce test est particulièrement intéressant pour différencier les résistances à la GH (anomalies du récepteur comme dans le nanisme de Laron par exemple), des situations (rares) dans lesquelles la GH est immunoréactive mais bioinactive sans anomalie du récepteur. Dans ces deux situations en effet, la concentration de GH circulante est élevée et celle d'IGF I basse et n'augmente pas après injections de GH dans les résistances alors qu'elle augmente fortement dans l'autre cas.

La fiabilité de l'interprétation de la mesure de l'IGF I est basée sur l'utilisation de valeurs de référence bien documentées. En effet, les concentrations d'IGF I varient considérablement avec l'âge ce que les valeurs de référence doivent prendre en compte. Les concentrations d'IGF I sont très basses chez le nouveau-né (reflet de la prépondérance de l'action paracrine de l'IGF I à cet âge) et augmentent progressivement jusqu'au début de la puberté où on observe un pic de concentration. Il faut être très prudent dans cette période « péripubertaire » et en particulier lorsqu'il existe un retard pubertaire. En effet, un garçon de 14 ans par exemple n'ayant pas débuté sa puberté aura une concentration d'IGF I considérée comme basse si on la compare à celle des garçons de 14 ans (qui sont en général en cours de puberté). Comme il sera petit pour son âge et pour peu qu'il réponde mal à un test de stimulation de la GH (situation très banale), on pourra le considérer très facilement (et à tort) comme ayant un déficit permanent en GH. Connaissant la lourdeur (une

injection par jour), le coût (environ 100 000 F par an à cet âge) et la mauvaise efficacité chez les non déficitaires en GH d'un traitement par hGH, on comprend l'importance d'une bonne interprétation des dosages. On aura donc avantage dans cette période, à avoir des valeurs de référence documentées non pas en fonction de l'âge mais en fonction du stade pubertaire. Dans le cas contraire, on peut limiter les erreurs en comparant la concentration d'IGF I non pas à celles correspondant à l'âge chronologique du patient mais plutôt à son âge osseux. Après la puberté, les concentrations d'IGF I diminuent, d'abord rapidement (elles reviennent à 20 ans à des valeurs équivalentes à celles retrouvées en prépuberté) puis plus progressivement (environ 10-15 % par décade).

Un autre point important à connaître est l'existence de valeurs d'IGF I plus basses chez les enfants ayant une petite taille « constitutionnelle » ou familiale (c'est-à-dire non associée à une pathologie). Pour affiner l'interprétation d'un dosage d'IGF I en pédiatrie, on aura donc avantage à connaître les concentrations d'IGF I obtenues chez ces enfants même si les valeurs de référence à utiliser doivent être obtenues chez des enfants normaux ayant une taille « normale » (comprise entre + 2 et - 2 DS). Une concentration d'IGF I en dessous de la limite inférieure des valeurs obtenues chez les enfants ayant une petite taille constitutionnelle, et à condition d'avoir éliminé une maladie hépatique ou un problème nutritionnel, sera très en faveur d'un déficit en GH. Une concentration d'IGF I normale (par rapport aux valeurs de référence obtenues chez les enfants de taille « normale ») sera très en défaveur d'un déficit en GH non lié à une tumeur mais n'exclura pas une tumeur. Une concentration d'IGF I au-dessous de la limite inférieure des valeurs « normales » mais au-dessus de la limite inférieure des valeurs obtenues chez les enfants ayant une petite taille constitutionnelle ne permettra pas de conclure, même si elle est associée à une réponse faible de la GH aux tests de stimulation.

*En résumé : les tests de stimulation de la GH ont une excellente sensibilité pour le déficit en GH (les vrais déficitaires ont dans l'immense majorité des cas un pic de GH <10 ng/mL) mais une mauvaise spécificité (beaucoup de faux positifs). La mesure de l'IGF I améliore très significativement cette spécificité (à condition de connaître les différents pièges d'interprétation).*

## **POUR EN SAVOIR PLUS :**

ADAN L., SOUBERBIELLE J.C., BRAUNER R. Diagnostic markers of permanent idiopathic growth hormone deficiency. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1994; 78 : 353-358.

ROSENFELD RG, ALBERTSON-WIKLAND K, CASSORLA F, FRASIER D, HASEGAWA Y, HINTZ R et al. Diagnostic controversy : the diagnosis of childhood growth hormone deficiency revisited. J. Clin. Endocrinol. Metab. 1995 ; 80 : 1532-1540.

SHALET SM, TOOGOOD A, RAHIM A, BRENNAN B. The diagnosis of growth hormone deficiency in children and adults. Endocrine Reviews 1998 ; 19 : 203-223.

BUSSIÈRES L, SOUBERBIELLE JC, PINTO G, ADAN L, NOEL M, BRAUNER R. The use of insulin-like growth factor 1 reference values for the diagnosis of growth hormone deficiency in prepubertal children. Clinical Endocrinol 2000 ; 52 : 735-739.

## ■ II. DOSAGES HORMONAUX DANS LES ANOMALIES PUBERTAIRES

---

### II.1- Hormones gonadotropes

Les gonadotrophines LH (*Luteinizing Hormone*) et FSH (*Follicle Stimulating Hormone*) sont des hormones glycoprotéiques secrétées par l'antéhypophyse qui régulent la maturation gonadique. Leur sécrétion est contrôlée par le GnRH (*Gonadotrophin releasing hormone*) hypothalamique et leur rythme pulsatile est synchrone des pulses de GnRH. LH et FSH sont des glycoprotéines bicaténaires composées d'une chaîne  $\alpha$  (92 amino-acides) commune à quatre hormones polypeptidiques (LH, FSH, HCG, TSH) et d'une chaîne  $\beta$  spécifique de chaque hormone (118 amino-acides pour  $\beta$ -FSH et 121 amino-acides pour  $\beta$ -LH). La recombinaison des sous-unités a et b est nécessaire à l'activité biologique. Les antennes glucidiques de ces glycoprotéines sont de composition variable et entraînent une hétérogénéité moléculaire propre à chaque individu : ce polymorphisme des hormones gonadotropes circulantes crée un mélange d'isoformes ayant une immuno-réactivité et une bio-activité différentes. Actuellement des techniques soit immunoradiométriques (IRMA) soit immuno-enzymatiques de type sandwich sont utilisées : la gonadotrophine à doser est reconnue par deux anticorps monoclonaux, spécifiques de deux épitopes qui doivent être assez distants l'un de l'autre.

#### II.1.1- Valeurs de référence

La détermination des valeurs de référence dépend de plusieurs facteurs tant analytiques que méthodologiques et biologiques.

Sur le plan analytique :

1) Ces dosages sont précis ( $CV \pm 3 \%$ ), sensibles (de l'ordre de  $\pm 0,1$  mUI/ml pour les dosages IRMA) et spécifiques (il n'y a plus de réaction croisée tant avec HCG qu'avec les sous-unités  $\alpha$  et  $\beta$  libres de LH et FSH). La spécificité du système sandwich de certains kits commerciaux est d'ailleurs parfois si étroite que certaines isoformes, en particulier pour la LH, ne sont pas reconnues par le couple d'anticorps monoclonaux utilisés.

2) La gamme d'étalonnage fournie avec chaque kit est calibrée par référence à un étalon international distribué par l'OMS. Celui-ci est préparé à partir d'extraits hypophysaires purifiés et titré par méthode biologique. Chaque lot d'étalon international est préparé en petite quantité et renouvelé régulièrement. Pour une même activité biologique, l'immuno-réactivité dépend de la composition en isoformes : la corrélation entre ces deux activités peut être différente. Ces deux derniers faits expliquent un calibrage différent des kits selon le lot d'étalon international utilisé par le fabricant.

Sur le plan biologique :

1) Pour atténuer l'effet de la sécrétion pulsatile, les valeurs de référence devront être établies sur une population témoin suffisamment large ( $n \geq 25$ ).

2) Enfin, la composition qualitative et quantitative des isoformes de LH et FSH varie selon le sujet, le sexe, l'âge et le statut physiopathologique.

Ces éléments bio-analytiques justifient des valeurs de référence des gonadotrophines propres à chaque laboratoire.

### II.1.2- Applications à la pédiatrie

Les valeurs basales des gonadotrophines chez l'enfant varient avec l'âge, le sexe et le stade pubertaire.

En période prépubertaire les valeurs de gonadotrophines sont indétectables ou basses. En début de puberté, le test de stimulation au GnRH en I.V. (100 µg/m<sup>2</sup> de surface corporelle) est donc nécessaire pour évaluer une réactivité hypophysaire accrue qui se traduit par une augmentation progressive de la LH dans les deux sexes.

Cette exploration étudie la valeur basale de LH et FSH, puis le pic de leur sécrétion après stimulation, (pic observé le plus souvent 30 min. après injection pour la LH et 60 à 90 min. pour le pic de FSH). L'intensité de la réponse dépend de l'âge, du sexe et du stade pubertaire. D'autre part, au cours de la stimulation par le GnRH, les isoformes produites sont variables selon l'individu, d'où le large intervalle des valeurs de référence. Les pics de sécrétion après stimulation permettent de calculer le rapport pic LH / pic FSH. Un rapport de  $\pm 0,7$  chez la fille et de  $\pm 2$  chez le garçon indique une activation nette de l'axe hypothalamo-hypophysaire.

- Dans l'exploration d'une puberté précoce, la réponse en gonadotrophines au test GnRH apporte des indications diagnostiques et des orientations thérapeutiques.

1) les valeurs obtenues lors d'un test GnRH permettent de différencier :

- une puberté précoce d'origine centrale avec participation hypothalamo-hypophysaire : une forte augmentation de la réponse de LH et du rapport pic LH / pic FSH est observée.

- une puberté précoce d'origine périphérique, avec une sécrétion gonadique non dépendante des gonadotrophines : la réponse au GnRH est faible ou nulle.

- une puberté précoce dissociée (*premature thelarche*) : le plus souvent, la réponse au GnRH est prépubère avec une réponse de la FSH prédominante, correspondant à une forme régressive.

La réponse au test GnRH sera confrontée avec d'une part la clinique (stade pubertaire, accélération de la vitesse de croissance, maturation osseuse), d'autre part certains paramètres biologiques (estradiol, testostérone, IGF I, Sulfate de DHA, marqueurs tumoraux) et enfin l'échographie pelvienne.

2) l'intensité de la réponse au test GnRH aide à l'indication d'un traitement freinateur par un analogue du GnRH : un rapport du pic LH / pic FSH  $> 1$  et une concentration d'estradiol  $> 20$  pg/ml (73 pmol/l) sont en faveur d'une puberté précoce évolutive.

- Dans l'exploration d'un retard pubertaire, la réponse en gonadotrophines au test GnRH permet de différencier :

- Un retard pubertaire simple : avec une réponse prépubère

- Une anomalie hypothalamo-hypophysaire : avec des valeurs basales indétectables ou basses et une réponse de LH et FSH au GnRH absente ou faible. Dans le déficit en gonadotrophines, des réponses variables peuvent être observées et dans un certain nombre de cas, le test au GnRH ne permet pas toujours de différencier un retard pubertaire d'un hypogonadisme hypogonadotrope.

- Une anomalie gonadique : valeurs basales et, après stimulation, élevées

## ***II.2- Stéroïdes surrénaliens et gonadiques***

Le dosage des stéroïdes gonadiques et surrénaliens dans les milieux biologiques reste délicat. Dans le plasma, ces hormones existent sous forme estérifiée (sulfates, glucuronides hydrosolubles) et non estérifiée. Ces dernières circulent dans le plasma liées à des protéines de transport, en équilibre avec des formes libres (dites actives car ce sont elles qui représentent la biodisponibilité du stéroïde pour son récepteur). Les dosages concernent les formes non estérifiées liées et libres qui sont lipophiles. Ce caractère physico-chimique permet leur extraction du plasma par des solvants organiques avant leur immunodosage. Les structures chimiques des stéroïdes sont très voisines, d'où la difficulté d'obtenir un immunosérum parfaitement spécifique de la molécule à doser. Bien que la spécificité au sein des principales familles de stéroïdes (androgènes, estrogènes, glucocorticoïdes, minéralocorticoïdes) soit satisfaisante, des difficultés subsistent à l'intérieur de chaque classe car les métabolites des stéroïdes circulants dans le plasma sont nombreux et de structure voisine. D'un point de vue pratique, il est important de connaître pour chaque immunodosage utilisé, le degré de croisement avec les autres stéroïdes ( indice d'Abraham : taux de réaction croisée mesuré pour un déplacement du traceur de 50 % avec un dosage par immuno-compétition ). La concentration plasmatique des hormones stéroïdiennes gonadiques ou surrénaliennes est très faible en particulier en pédiatrie d'où la nécessité de disposer d'un dosage très sensible grâce à l'usage d'immunosérum de haute affinité.

Pour ces différents critères, malgré le développement de techniques immunoenzymatiques présentant certains avantages (rapidité d'exécution intéressante pour le cortisol par exemple), actuellement les techniques les plus communément utilisées restent pour de nombreux stéroïdes celles par immuno-compétition avec un traceur marqué à l'iode 125 et l'utilisation d'anticorps polyclonaux.

Ces dosages sont réalisés après une extraction préalable par un solvant organique, ou une extraction suivie d'une purification par chromatographie.

## ***II.3- Stéroïdes surrénaliens***

L'exploration des hormones stéroïdiennes de la surrénale dans les anomalies pubertaires (pubarche précoce) comprend le dosage des androgènes et de la 17OH progestérone.

### ***II.3.1- Déhydroépiandrosterone, Sulfate de Déhydroépiandrosterone, $\Delta$ 4-Androstènedione***

En prépuberté, alors que le niveau des gonadotrophines plasmatiques est bas et que l'activité gonadique est quiescente, la production d'androgènes par le cortex surrénalien s'accroît : c'est l'adrénarchie caractérisée par une augmentation significative de la déhydroépiandrosterone (DHA) et de son sulfate (DHAS), dès l'âge de 6-7 ans chez la fille, vers 8-9 ans chez le garçon ; la  $\Delta$ 4-androstènedione augmente 1 à 2 ans après.

Une extraction au diéthylether pour la DHA, une extraction au cyclohexane / acétate d'éthyle suivie d'une purification par chromatographie sur colonne de célite pour la  $\Delta$ 4-androstènedione, est réalisée préalablement au dosage par immuno-compétition. Le dosage du DHAS est une technique RIA directe mais un intervalle de valeurs étendues nécessite l'utilisation de deux dosages différents adaptés aux concentrations rencontrées en pédiatrie : un dosage ultra sensible utilisé pour les valeurs basses normales chez les enfants entre 1 et 6 ans, basses chez les enfants sous corticothérapie et un dosage adapté à des concentrations



plus élevées : puberté précoce, adrénarche précoce, pathologie surrénalienne. Les valeurs de référence de ces paramètres sont définies en fonction de l'âge, du stade pubertaire et du sexe.

La « *premature pubarche* » désigne habituellement la survenue d'une pilosité pubienne précoce (avant 8 ans chez la fille et 9 ans chez le garçon). En général, elle est secondaire à une production accrue des androgènes surrénaliens pour l'âge chronologique. Dans ce cas, des valeurs pubertaires de DHAS, DHA, D4-androstènedione et une valeur normale de 17 OH progestérone sont observées.

### **II.3.2- 17-OH progestérone**

La 17-OH progestérone (17-OHP) est un stéroïde intermédiaire dans la chaîne de biosynthèse des androgènes ainsi que des glucocorticoïdes. Son dosage est réalisé par immuno-compétition, après une extraction au diéthylother. Les valeurs usuelles sont chez l'enfant : < à 3 ng/ml (9 nmol/l) de J2 à 4 mois, < à 1 ng/ml (3 nmol/l) jusqu'à la puberté, puis < à 2 ng/ml (6 nmol/l) en cours de puberté. Une pilosité pubienne précoce, peut révéler un défaut de stéroïdogénèse surrénalienne dont le plus fréquent est le déficit en 21-hydroxylase de forme non classique (à révélation tardive). Souvent, la valeur de base de la 17-OHP est insuffisante pour poser le diagnostic de la forme non classique. En effet, une valeur modérément élevée peut être retrouvée chez un sujet sain soumis à un stress. Il est donc indispensable de mesurer la 17-OHP après un test de stimulation par le Synacthène®. Lorsque la réponse est normale 60 min. après injection de Synacthène®, la concentration de 17-OHP est inférieure à 3 ng/ml (9 nmol/l).

## **II.4- Stéroïdes gonadiques**

L'activation de l'axe hypothalamo-hypophysaire entraîne le développement des gonades à la puberté avec une augmentation significative de la sécrétion de la testostérone chez le garçon vers 12-14 ans et de l'estradiol chez la fille vers 10-12 ans, paramètres complémentaires du test au GnRH dans l'évaluation du développement pubertaire.

### **II.4.1- Testostérone**

La testostérone, androgène majeur, circule dans le plasma en partie liée à l'albumine mais surtout à une protéine spécifique de transport, la SHBG (*Sex Hormone Binding Globulin*). Le dosage est réalisé après extraction par le diéthylother, par une technique de compétition vis à vis de la testostérone radiomarquée à l'iode 125. Au cours de la puberté, la testostérone plasmatique, d'origine essentiellement leydigienne chez le garçon, s'élève de valeurs prépubères < à 0,07 ng/ml (0,24 nmol/l) vers des valeurs > à 0,5 ng/ml (1,7 nmol/l) en début de puberté, pour atteindre ensuite des valeurs adultes (3,5-8,5 ng/ml) (12-29 nmol/l). Chez la fille, la testostérone, synthétisée en faible quantité par l'ovaire, est majoritairement d'origine périphérique par conversion de la  $\Delta_4$  androstènedione et de la déhydroépiandrostérone, (passage de valeurs prépubères < à 0,07 ng/ml (0,24 nmol/l) à des valeurs adultes (0,20-0,40 ng/ml) (0,7-1,4 nmol/l).

La sensibilité et la spécificité de ce dosage sont donc particulièrement importantes afin d'estimer avec exactitude, par exemple, une puberté débutante chez le garçon ou une hyperandrogénie responsable d'une pilosité pubienne précoce chez la fille.

### **II.4.2- Estradiol**

Comme la testostérone, l'estradiol (E2) circule en partie lié à l'albumine mais majoritaire-

ment à la SHBG. Après une extraction au diéthylother, il est mesuré par une technique RIA. Son dosage doit être également sensible et spécifique, adapté aux faibles concentrations rencontrées : chez la fille, augmentation de valeurs prépubères < à 10 pg/ml (37 pmol/l) vers des valeurs > à 20 pg/ml (73 pmol/l) dès qu'un stade de Tanner 2-3 est observé ; chez le garçon, augmentation de valeurs prépubères < à 10 pg/ml (37 pmol/l) vers des valeurs  $\pm$  20 pg/ml (74 pmol/l) en fin de puberté. Actuellement, il est difficile d'obtenir un seuil de sensibilité inférieur à 10 pg/ml (37 pmol/l) si bien qu'une dissociation est fréquente chez une fille entre la réponse au GnRH pubère et un E2 prépubère (< à 10 pg/ml). En effet, en début de puberté, il existe un rythme circadien de E2 avec des concentrations plus ou moins détectables en fin de nuit et/ou début de matinée, correspondant à la pulsativité uniquement nocturne de la LH. La sensibilité du dosage est insuffisante à ce moment-là, le développement des seins témoignant pourtant d'une certaine estrogénie.

### ■ III. DOSAGES HORMONAUX DANS L'EXPLORATION DE L'AXE CORTICOTROPE

---

#### III.1- ACTH

L'ACTH (*adreno-corticotropin-hormone*) est une hormone peptidique (39 amino-acides), sécrétée par les cellules corticotropes de l'antéhypophyse. Elle stimule essentiellement la synthèse et la sécrétion des glucocorticoïdes (cortisol) ; elle a un effet moins marqué sur les minéralocorticoïdes (aldostérone) et les androgènes surrénaliens (DHA,  $\Delta$ 4-androstènedione). La synthèse de l'ACTH est elle-même stimulée par la sécrétion d'une hormone hypothalamique, le CRH « *corticotropin releasing hormone* » dont la production varie en fonction du rythme circadien et d'un stress. La cortisolémie régule également la libération de l'ACTH par un mécanisme de rétrocontrôle négatif au niveau de l'hypophyse. La sécrétion de l'ACTH se fait suivant un rythme nyctéméral qui précède celui du cortisol. La concentration plasmatique en ACTH la plus élevée est atteinte en fin de nuit et atteint des valeurs minimum vers 22 heures. Depuis quelques années se sont développées des techniques immunoradiométriques (IRMA) de type sandwich qui présentent des avantages sur les techniques RIA classiques. Ces dosages ont un seuil de sensibilité de l'ordre de 2 pg/ml (0.4 pmol/l) alors qu'il se limitait à 10-20 pg/ml (2-4 pmol/l) avec les techniques RIA précédentes. Cette plus grande sensibilité permet d'étudier le rythme nyctéméral de l'ACTH et de déterminer un hypofonctionnement de la lignée corticotrope hypophysaire. D'autre part, ces dosages IRMA sont aptes à quantifier les hypersécrétions d'ACTH sans avoir recours à des dilutions du plasma initial (linéarité des gammes étalon jusque 1 500 pg/ml soit 300 pmol/l). La molécule d'ACTH étant très fragile, il est impératif de centrifuger et congeler les échantillons plasmatiques dans les 15 min qui suivent le prélèvement à une température inférieure à  $-18^{\circ}\text{C}$ . Le traitement de la molécule par un réactif d'acylation stabilise la molécule d'ACTH avant le dosage. Les valeurs de référence chez l'enfant sont de 10 à 50 pg/ml (2 à 10 pmol/l).

#### III.2- Cortisol plasmatique

Le cortisol, hormone glucocorticoïde, est synthétisé par la zone fasciculée du cortex surrénalien. Comme pour l'ACTH, il est indispensable de tenir compte de l'heure de prélèvement pour interpréter un résultat et de s'assurer que le cycle nyctéméral n'a pas été perturbé

(patient arrivant des Antilles par exemple ). Dans le sang, le cortisol circule en partie lié à l'albumine (15 %) mais surtout à une protéine spécifique de transport du cortisol, la CBG (*Cortisol Binding Globulin*) (75 %). Les immunodosages utilisés déterminent le cortisol total circulant (libre et lié). Ils doivent avoir une grande sensibilité et une bonne spécificité (absence de réaction croisée significative avec les traitements stéroïdiens éventuels). Actuellement, la plupart des trousse commercialisées, que ce soit des immuno-dosages isotopiques ou non, possèdent des anticorps qui gardent une réaction croisée sensible (indice d' Abraham à 10-20 %) ou forte ( indice > à 30 %) avec la prednisolone ou la methyl-prednisolone. En fonction de la particularité du laboratoire, certains choix se feront suivant la spécificité d'un kit. Dans notre pratique, étant souvent confrontés à des situations d'hyperplasie congénitale des surrénales, nous avons privilégié une trousse RIA de cortisol plasmatique croisant peu avec la 17-OH progestérone (indice à 1,6 %) mais croisant avec la prednisolone d'où l'importance des renseignements cliniques et de l'information sur les traitements en cours. Les valeurs de référence à 8 heures le matin sont : 5 à 21 µg/dl (138 à 580 nmol/l) chez l'enfant de moins de 2 ans et 9 à 21 µg/dl (250 à 580 mol/l) chez l'enfant de plus de 2 ans.

### **III.3- Cortisol libre urinaire**

Le dosage du cortisol libre urinaire (CLU) est un bon paramètre d'évaluation de la fonction glucocorticoïde de base. Il est effectué sur les urines de 24 heures dont le recueil correct sera contrôlé par la mesure simultanée de la créatininurie. Il représente la forme libre du cortisol plasmatique, puisque la barrière rénale ne permet l'excrétion que de la fraction non liée aux protéines ; la fraction libre représente la forme active. Le dosage spécifique du cortisol libre urinaire nécessite une étape de purification, que la concentration soit mesurée par immunodosage ou par chromatographie liquide haute performance (HPLC) avec détection en ultraviolet.. La technique HPLC peut être couplée, par exemple, avec une purification préalable de l'urine sur colonne de silice BOND ELUT TM C18 en présence de la dexaméthasone comme étalon interne. Ce procédé permet de détecter entre autre des corticoïdes utilisés en thérapeutique tels que la prednisone, la prednisolone, la methylprednisolone. Le seuil de sensibilité est de l'ordre de 1 µg/l . Les résultats sont exprimés en µg/24 h et rapportés à la surface corporelle (valeurs usuelles : 5 à 50 µg/24h/1,73m<sup>2</sup> avec une technique HPLC).

### **III.4- 17-OH progestérone**

La 17-OH progestérone (17-OHP) est un stéroïde intermédiaire dans la chaîne de biosynthèse des glucocorticoïdes ainsi que des androgènes. Le dosage est réalisé par immuno compétition, après une extraction au diéthyler. Les valeurs usuelles sont chez l'enfant : inférieures à 3 ng/ml (9 nmol/l) de J<sub>2</sub> à 4 mois, puis inférieures à 1ng/ml (3 nmol/l) jusqu'à la puberté, et inférieures à 2 ng/ml (6 nmol/l) en cours de puberté.

### **III.5- Aldostérone**

L'aldostérone, hormone minéralocorticoïde, est synthétisée par la zone glomérulée du cortex surrénalien. Sa sécrétion est contrôlée essentiellement par le système rénine-angiotensine, mais dépend également de l'ACTH et de la kaliémie. L'aldostérone est faiblement liée à des protéines plasmatiques et circule principalement sous forme libre. Le dosage de l'aldostérone plasmatique est généralement réalisé par une technique RIA (type immuno-compétition) directe. Le prélèvement est effectué de préférence entre 8 et 10 heures le matin, car il existe un rythme circadien.

Les normes sont définies en fonction de l'âge (les valeurs sont plus élevées chez le nourrisson), de la position (couchée ou debout depuis plus d'une heure, la position orthostatique double ou triple la concentration d'aldostérone), du régime sodé (une déplétion sodée ou un régime sans sel double les valeurs de référence établies avec un régime normosodé). Pour l'interprétation des résultats, il est important de connaître l'apport sodé, la prise d'un éventuel traitement antihypertensif qu'il faut arrêter avant le dosage. Les valeurs de référence sont chez l'enfant : inférieures à 200 ng/dl à la naissance, 15 à 105 ng/dl entre 2 semaines et 3 mois, 6 à 90 ng/dl entre 3 mois et 1 an, 10 à 80 ng/dl entre 1 an et 3 ans, 4 à 40 ng /dl au dessus de 3 ans.

### **III.6- Rénine**

La rénine active, polypeptide de 345 amino-acides, est une protéase sécrétée par les cellules juxtaglomérulaires. Elle clive l'angiotensinogène en angiotensine I inactive qui ensuite sous l'action de l'enzyme de conversion est transformée en angiotensine II active. L'angiotensine II est le facteur clef dans la régulation de la pression artérielle et de l'équilibre hydro-sodé. La rénine est mesurée par une technique immunoradiométrique de type sandwich utilisant un couple d'anticorps monoclonaux, le premier reconnaissant les formes actives et inactives de la rénine, le deuxième reconnaissant uniquement la forme active.

Comme pour l'aldostérone, les valeurs de référence varient avec l'âge, la position du sujet orthostatique ou couchée, le régime sodé. Les valeurs de référence sont chez l'enfant : < à 6 mois : 18 à 120 pg/ml, de 6 mois à 5 ans : 7 à 115 pg/ml, de 6 ans à 15 ans : 6.5 à 80 pg/ml.

#### ***III.6.1- Exploration hormonale de l'axe corticotrope***

##### **a) Insuffisance surrénalienne :**

Différents examens hormonaux sont proposés pour affirmer le diagnostic d'insuffisance surrénalienne et préciser le caractère central ou périphérique de l'atteinte.

1) les dosages statiques du cortisol et de l'ACTH plasmatiques :

une cortisolémie inférieure à 3 µg/dl (soit 83 nmol/l) entre 8 et 9 heures affirme le diagnostic d'insuffisance surrénalienne. Dans ce cas, l'ACTH plasmatique permet de différencier l'origine centrale ( valeur basse de l'ACTH) ou périphérique ( valeur élevée de l'ACTH, supérieure à 100 pg/ml soit 22 pmol/l) de l'insuffisance surrénalienne.

2) le test de stimulation au Synacthène® :

Il est réalisé idéalement avant 10 heures par injection IM de 250 µg de Synacthène® immédiat et par la mesure de la cortisolémie de base puis 60 min après stimulation. Une cortisolémie post-stimulation supérieure à 20 µg/dl, soit 550 nmol/l élimine une insuffisance surrénalienne périphérique. Ce test, très utilisé lors du sevrage d'une corticothérapie prolongée, permet d'évaluer la réserve surrénalienne après 12 heures d'arrêt de l'hydrocortisone.

Dans la recherche d'un bloc de la synthèse surrénalienne, le diagnostic est réalisé avec les dosages de la 17-OHP, la rénine, l'aldostérone et le 11desoxycortisol.

Dans les formes classiques d'hyperplasie congénitale des surrénales à révélation néo-natale :

- déficit en 21-hydroxylase :
- forme virilisante pure : 17-OHP élevée, rénine normale pour l'âge
- forme avec perte de sel : 17-OHP élevée, rénine élevée et aldostérone basse
- déficit en 11β-hydroxylase : 17-OHP et 11 desoxycortisol élevés

Dans les formes non classiques, à révélation tardive du déficit en 21-hydroxylase, fréquemment, la valeur de base de la 17-OHP est insuffisante pour poser le diagnostic. En effet, une valeur modérément élevée peut être retrouvée chez un sujet sain soumis à un stress. Il est donc indispensable de mesurer la 17-OHP après un test de stimulation par le Synacthène®. Lorsque la réponse est normale 60 min. après injection de Synacthène®, la concentration de 17-OHP est inférieure à 3 ng/ml (9 nmol/l).

### b) recherche d'un hypercorticisme (syndrome de Cushing)

Les éléments biologiques qui permettent le diagnostic sont :

- 1) l'étude de la sécrétion nyctémérale du cortisol et de l'ACTH (un prélèvement est effectué toutes les 4 heures pour apprécier la rythmicité de la sécrétion)
- 2) l'élimination du cortisol libre urinaire.
- 3) un freinage « minute » à la Dexaméthasone (DXM) (1 mg/1,73m<sup>2</sup> de surface corporelle en une prise à minuit) et mesure du cortisol plasmatique le lendemain à 8 heures.

Le diagnostic de l'hypercorticisme se fera sur l'abolition du cycle nyctéméral de la sécrétion du cortisol plasmatique, un cortisol libre urinaire > à 50 µg/24 h/1,73m<sup>2</sup> de surface corporelle, un freinage minute absent ou insuffisant (valeur de la cortisolémie après dexaméthasone supérieure à 5 mg/dl soit 138 nmol/l).

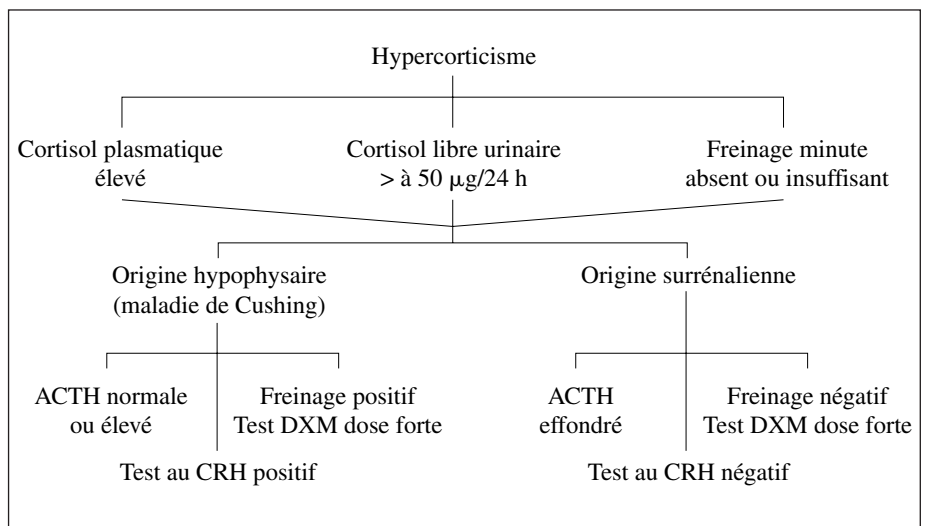
Le diagnostic étiologique permet de différencier :

- 1) une origine hypophysaire (maladie de Cushing) marquée par :
  - un cortisol plasmatique élevé et un ACTH plasmatique modérément élevé
  - un freinage positif au cours du test à la dexaméthasone à dose forte (8 mg/24 h/1,73m<sup>2</sup> de surface corporelle) pendant deux jours. La valeur du cortisol plasmatique effectué après dexaméthasone s'abaisse au-dessous de 50 % de la valeur initiale.
  - une réponse positive au test de stimulation par le CRH (100µg/1,73m<sup>2</sup>). La réponse est positive lorsque l'élévation du cortisol est > à 20 % et celle de l'ACTH à 50 % des valeurs de base respectives.

- 2) une origine surrénalienne marquée par :

- un cortisol plasmatique élevé, un ACTH effondré
- une absence de freinage lors du test à la dexaméthasone (dose forte)
- une absence de réponse au test de stimulation par le CRH.

Le diagnostic d'hypercorticisme peut s'avérer délicat. Il peut y avoir des difficultés d'interprétation du cortisol libre urinaire (recueil urinaire incomplet, hypercortisolisme intermittent), des réponses intermédiaires (variations diurnes spontanées) ou paradoxales aux tests de freinage. Les résultats biologiques seront toujours confrontés avec la clinique et l'imagerie.



# DIABÈTE SUCRÉ DE L'ENFANT ET DE L'ADOLESCENT

JEAN-JACQUES ROBERT

CAHIER DE **BIOFORMA**  
**Formation**  
version numérique

Le diabète sucré est un syndrome d'hyperglycémie chronique aux causes variées. Le diabète, chez l'enfant, est presque toujours insulino-dépendant (type 1 ou DID) et pose des problèmes particuliers de diagnostic, de traitement et de suivi. Le traitement consiste à remplacer l'insuline que le pancréas ne produit plus. L'insuline est administrée selon un rythme correspondant aux besoins, principalement dépendants des repas, et les doses d'insuline sont adaptées par le patient d'après les résultats de l'auto-surveillance. La diététique, complément du traitement hormonal substitutif, a comme objectif d'assurer un apport alimentaire régulier, pour limiter les variations glycémiques, et un bon équilibre nutritionnel. Le traitement tient également compte de l'activité physique, qui a des effets bénéfiques sur l'action de l'insuline, mais fait varier les besoins en insuline. Les enfants ayant un DID doivent être suivis par une équipe comprenant des médecins, infirmiers (ères), diététicien(ne)s, psychologues et assistant(e)s sociaux (ales) formés à la prise en charge globale de la maladie.

En France, l'incidence annuelle du diabète de type 1 est de 10/100 000 sujets de moins de 15 ans, soit environ 1 000 nouveaux cas par an et un total de 10 000 jeunes diabétiques. Les garçons et les filles sont également atteints. D'importantes variations ont été décrites d'un pays à l'autre. Il y a par ailleurs une augmentation du nombre de cas au cours des dernières décennies.

Les autres formes de diabète sucré sont rares, mais beaucoup sont souvent diagnostiquées dans l'enfance (Tableau I). Les plus spécifiques sont : l'hyperglycémie non-insulino-dépendante du jeune, connue sous le nom de MODY (Maturity-Onset Type Diabetes of the Young), caractérisée par son diagnostic précoce et son caractère familial avec une transmission dominante ; le diabète néo-natal, très rare : transitoire dans la moitié des cas, il peut alors réapparaître 10 ou 20 ans plus tard ; les syndromes de résistance extrême à l'insuline : lipoatrophie généralisée, léprechaunisme, syndrome de Mendenhall-Rabson, syndrome de résistance à l'insuline avec acanthosis nigricans...

Au cours des 20 dernières années, on a vu se développer deux formes de diabète, qui sont nouvelles pour les jeunes :

Le diabète lié à la mucoviscidose, du fait de l'accroissement de l'espérance de vie des patients : la destruction progressive des îlots de Langerhans par la fibrose pancréatique entraîne un diabète dont la fréquence augmente avec l'âge, pour atteindre environ 25 % à 20 ans et 50 % vers 30-40 ans.

Le diabète non-insulino-dépendant (type 2 ou DNID) de l'adolescent. Ce DNID précoce est lié à l'obésité et a un caractère familial et ethnique très marqué. Sa fréquence, encore faible en France, commence à augmenter avec l'accroissement de l'obésité dans la population. On doit donc être prêt à faire face à l'émergence de ce problème à un âge jusqu'alors inhabituel.

**Tableau I. Classification étiologique du diabète sucré\***

I. Diabète de type 1
Auto-immun Idiopathique
II. Diabète de type 2
III. Autres types particuliers
A - Anomalies génétiques de la fonction de la cellule $\beta$ Chromosome 12, HNF-1 $\alpha$ (MODY 3) Chromosome 7, glucokinase (MODY 2) Chromosome 20, HNF-4 $\alpha$ (MODY 1) ADN mitochondrial Autres
B - Anomalies génétiques de l'action de l'insuline Résistance à l'insuline de type A Lépréchaunisme Syndrome de Rabson-Mendenhall Diabète lipoatrophique Autres (mutations du gène de l'insuline et hyperproinsulinémie)
C - Maladies du pancréas Traumatisme - Pancréatectomie Mucoviscidose
D - Endocrinopathies
E - Diabète induit par les médicaments ou les agents chimiques Glucocorticoïdes
F - Infections Rubéole congénitale Cytomégalovirus
G - Formes inhabituelles de diabète auto-immun Anticorps anti-récepteur de l'insuline
H - Autres syndromes génétiques quelquefois associés au diabète Trisomie 21 Syndrome de Wolfram Syndrome de Laurence-Moon-Bield Syndrome de Prader-Willi

\* D'après « Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus » ; seules les affections diagnostiquées dans l'enfance sont reportées dans ce tableau ; pour la classification complète, consulter la Référence 10.

## ■ I. LE DIAGNOSTIC DE DIABÈTE

### I.1- Les circonstances du diagnostic

Le DID est une maladie d'installation progressive. La destruction auto-immune des cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans entraîne la détérioration lente de la sécrétion d'insuline et de la tolérance au glucose, sur plusieurs années. Quand la plupart des cellules  $\beta$  ont disparu, une hyperglycémie permanente s'installe et les signes cliniques apparaissent rapidement. Le diagnostic du diabète sucré est évident devant un syndrome polyuro-polydip-sique. La polyurie, avec levers nocturnes et parfois énurésie, la soif, la fatigue et l'amaigrissement s'installent en quelques semaines ou même quelques jours. Encore trop souvent, du temps est perdu et l'enfant est hospitalisé au stade d'acido-cétose. Le diabète peut être découvert avant les signes cliniques, par un dosage fortuit de la glycosurie ou de la glycémie. Enfin, le diabète peut être recherché à titre systématique dans un contexte à risque, essentiellement dans la fratrie d'un patient diabétique.

D'autres formes de diabète, comme le diabète néo-natal, le diabète de la mucoviscidose, le DNID de l'adolescent et le MODY lié à une mutation HNF-1a, peuvent se révéler par un syndrome polyuro-polydipsique, avec hyperglycémie, glycosurie et même cétonurie. C'est sur le contexte particulier que l'on ne doit pas manquer d'évoquer une autre étiologie que le DID. Par ailleurs, on recherche de plus en plus systématiquement les hyperglycémies, avant leur expression clinique, dans ces formes particulières de diabète, ainsi que dans le MODY avec mutation de la glucokinase, les syndromes de résistance à l'insuline et les autres syndromes rares.

## I.2- Les moyens du diagnostic

Les moyens biologiques nécessaires au diagnostic de diabète sucré dépendent des circonstances de découverte.

Devant un syndrome polyuro-polydipsique, de simples bandelettes, pour la recherche de la glycosurie et de la cétonurie et le dosage de la glycémie, suffisent pour décider de le

*Tableau II. Exemple de protocole de traitement de l'acido-cétose*

<b>I. Perfusions intraveineuses</b>		
1. En cas de collapsus :	<b>plasmion</b>	<b>20 ml/kg en 15-30 minutes</b>
2. En cas d'acidose sévère (hyperventilation majeure, pH < 7) :	<b>bicarbonate 14 ‰</b>	<b>5 ml/kg en 30 minutes</b>
3. Dans tous les cas :	<b>NaCl 9 ‰</b>	<b>10 ml/kg heure</b>
	Interrompre la perfusion quand la glycémie est < 2,5 g/l	
	Arrêter après 2 heures quelle que soit la glycémie	
Puis :	<b>Glucose 10 %</b>	<b>3 l/m<sup>2</sup> 24 heures</b>
	Pour 500 ml : 1 g NaCl ; 1,5 g KCl ; 0,5 g GlucCa	
4. Si la kaliémie corrigée est inférieure à 2,5 mEq/l, ou si les ECG montrent un aplatissement des ondes T :	ajouter 0,75 g KCl/500 ml de bicarbonate ou de sérum physiologique ou de glucosé	
	Kaliémie corrigée = kaliémie mesurée 2 6 (7,40 – pH mesuré)	
<b>II. Insuline</b>		
À débiter en même temps que la perfusion de bicarbonate ou NaCl.		
1. Préparation d'une solution d'insuline à 1 Unité/ml :		
Insuline rapide	50 unités, soit	0,5 ml
Sérum physiologique		49,5 ml
2. Débit initial : 0,1 Unité/kg heure (0,05 Unité/kg heure avant 5 ans)		
Adapter le débit d'insuline aux mesures de la glycémie capillaire		
<b>III. Surveillance biologique</b>		
1. À l'admission	NFS*, glycémie*, gaz du sang*, ionogramme*, urée*, protides*, Ca*, P cholestérol, triglycérides (demander les résultats en urgence si la Natrémie est basse)	
2. Glycémie capillaire (bandelette + lecteur glycémique)	- toutes les 15 minutes pendant les 2 premières heures - toutes les heures pendant 6 heures, puis toutes les 2 heures (ou plus si nécessaire)	
3. Recueil des urines : sur chaque miction, sucre, acétone, pH (à la bandelette)		
4. À la fin de la perfusion de sérum physiologique et après 4 h, 12 h et 24 h de perfusion	glycémie*, gaz du sang*, ionogramme*, Ca, P	
5. À la 24 <sup>e</sup> heure de perfusion : idem prélèvements initiaux		

\* Examens à analyser en urgence.

Pour plus de détails, consulter la Référence 10.



diriger immédiatement vers l'hôpital. Dès que l'hyperglycémie est confirmée, on débute la réhydratation et l'insulinothérapie intra-veineuse, si l'état de l'enfant le justifie. En cas d'acidose, un protocole standardisé est appliqué, avec un suivi des paramètres biologiques pendant environ 24 heures (Tableau II). Le relais est ensuite pris par l'insuline sous-cutanée, généralement en deux injections d'un mélange d'insuline d'action rapide et de NPH. L'enfant reste hospitalisé 10 à 15 jours pour son éducation au traitement à domicile.

Dans ces circonstances, les examens à caractère étiologique n'ont généralement pas d'intérêt diagnostique :

- l'étude des critères génétiques et immunologiques du diabète de type 1 sert surtout à l'interprétation de l'analyse des facteurs de risque de DID dans la fratrie ;
- dans un contexte de DNID familial, les études immunologiques et génétiques peuvent être justifiées pour ne pas méconnaître un DNID ou un MODY, et ne pas prescrire l'insuline inutilement ;
- le diabète à révélation néo-natale ou très précoce nécessite des investigations génétiques particulières.

C'est lorsque le diabète est découvert avant les signes cliniques, fortuitement ou par une recherche systématique, que l'on a recours à une plus grande variété d'examens biologiques, avec deux objectifs : évaluer l'état métabolique et rechercher une étiologie.

## ■ II. ÉVALUATION DE L'ÉTAT MÉTABOLIQUE

### II.1- Tolérance au glucose

Évaluer l'état métabolique consiste d'abord à classer le patient dans une des trois catégories : tolérance normale au glucose, intolérance au glucose ou diabète. On se réfère aux critères (Tableau III) établis par l'American Diabetes Association et l'Organisation Mondiale de la Santé, en fonction de la glycémie à jeun et de la réponse glycémique à une charge orale en glucose (Hyperglycémie Provoquée Orale ou HGPO, Tableau IV).

Les perturbations de la glycémie à jeun ou de la tolérance au glucose peuvent s'expliquer de deux façons: soit un déficit de la sécrétion d'insuline, soit une résistance des tissus effecteurs à l'action de l'insuline. La compréhension des mécanismes d'une hyperglycémie passe donc par l'exploration de la sécrétion et de l'action de l'insuline.

**Tableau III.** Classification des états de tolérance au glucose, d'après les résultats de l'HGPO

	Glycémie (mmol/l)		
	À jeun	30-60 min	120 min
Normal	< 6.1	< 11	< 7.8
Diabète	> 7	-	> 11

*L'intolérance au glucose correspond aux situations intermédiaires entre Normal et Diabète.*

**Tableau IV. Protocole de l'Hyperglycémie Provoquée Orale (HGPO)**

<b>But</b>	Mesure de la Tolérance au Glucose (et de la sécrétion d'insuline)
<b>Conditions de réalisation du test</b>	A jeun depuis la veille au soir Alimentation suffisamment riche en glucides (50 %) durant les 3 jours précédant le test Glycémie à jeun inférieure à 7 mmol/l
<b>Produit et posologie</b>	Glucose monohydraté préparé à la concentration d'environ 18 grammes/100 ml Après 3 ans : 1,75 grammes/kg de poids, sans dépasser 75 grammes (dose de l'adulte) Avant 3 ans : 2,5 grammes/kg de poids
<b>Protocole</b>	Peser et mesurer le patient Vider la vessie et rechercher la glycosurie (Kéto-Diabut Test 5000) Poser une voie d'abord : cathlon ou épicanienne Effectuer les prélèvements du temps 0 Faire prendre la solution de glucose per os en moins de 5 minutes Effectuer les prélèvements à 30, 60 (90) et 120 minutes À la fin du test, vider la vessie et rechercher la glycosurie
<b>Examens à faire sur chaque prélèvement</b>	Glycémie avec une bandelette et un lecteur glycémique* Glycémie au laboratoire (< 0,5 ml sur fluorure de sodium) Insuline (1 ml sur héparine) ± Peptide-C (1 ml sur héparine) et autres prélèvements selon prescription
<b>Cas particuliers</b>	Dans certains cas, l'épreuve peut être prolongée au-delà de 120 minutes En cas de recherche d'un diabète rénal : vider la vessie et rechercher la glycosurie à 0, 60 et 120 minutes

\* La mesure de la glycémie au lit du patient permet au médecin de donner une estimation de la tolérance au glucose dès la fin du test.

## II.2- Sécrétion d'insuline

La sécrétion d'insuline s'évalue par le dosage plasmatique de l'insuline et du peptide-C. Libéré par les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans en quantité équimolaire de l'insuline, le peptide-C n'est pratiquement pas retenu par le foie au cours de son premier passage, alors que 50 % de l'insuline se fixe aux récepteurs des hépatocytes. Le peptide-C circulant est donc un reflet plus fidèle de la sécrétion d'insuline que l'insuline elle-même. Chez des sujets non traités par l'insuline, les deux dosages donnent généralement des résultats très comparables, mais dans certaines circonstances, le peptide-C s'avère plus sensible que l'insuline. Le dosage du peptide-C a surtout de l'intérêt chez les patients traités par l'insuline, les dosages ne différenciant pas l'insuline injectée d'origine exogène d'une éventuelle sécrétion pancréatique résiduelle.

La mesure de la sécrétion d'insuline est relativement complexe. En effet, il y a un nombre assez important de tests de stimulation de la sécrétion d'insuline, dont aucun ne peut être considéré comme le test de référence. Les réponses à plusieurs tests peuvent être différentes et elles peuvent varier selon la cause du déficit insulino-sécrétoire. Les dosages de l'insuline à jeun ou au cours de l'hyperglycémie provoquée orale sont peu sensibles, bien que cela puisse être amélioré par certains modèles de calculs assez complexes. Deux tests sont d'un emploi clinique courant :

L'hyperglycémie provoquée intra-veineuse (HGPIV) s'est avérée un test particulièrement précoce de perturbation de la sécrétion d'insuline, aussi bien dans le diabète de type 1 que dans le DNID. Dans le diabète de type 1, une baisse de la réponse insulinaire à l'HGPIV, ou pic précoce d'insulino-sécrétion, constitue en soi un facteur de risque de DID dans la fratrie de patients DID. Dans le DNID, le pic précoce d'insulino-sécrétion est abaissé bien avant la réponse à tous les autres tests.

Le test au glucagon avec dosage du peptide-C est le seul test assez sensible pour mesurer la sécrétion résiduelle d'insuline chez des patients diabétiques insulino-dépendants déjà traités.

Les autres tests de stimulation de la sécrétion d'insuline sont :

- soit des injections intra-veineuses instantanées de diverses substances : arginine, calcium, tolbutamide ;
- soit des perfusions de glucose selon des procédures plus ou moins complexes : perfusion à débit continu, perfusion à débits croissants, clamp hyperglycémique, qui permettent d'établir les relations entre les niveaux glycémiques et la réponse insulinaire mieux que les injections instantanées.

Pour l'essentiel, ces dernières méthodes sont utilisées en recherche clinique et ont peu d'indications en pratique clinique.

**Tableau V. Protocole de l'Hyperglycémie Provoquée Intra-Veineuse (HGPIV)**

<p><b>But</b> Mesure de la sécrétion d'insuline (Pic Précoce)</p>
<p><b>Conditions de réalisation du test</b> A jeun depuis la veille au soir Alimentation suffisamment riche en glucides (50 %) durant les 3 jours précédant le test Glycémie à jeun inférieure à 7 mmol/l</p>
<p><b>Produit et posologie</b> Soluté de glucose à 30 % 0,5 gramme/kg de poids, sans dépasser 36 grammes (= 120 ml) Quantité de G30 (en ml) : diviser les grammes de glucose par 3 et multiplier par 10</p>
<p><b>Protocole</b> Peser et mesurer le patient Poser une ou deux voies d'abord : cathlon ou épicanienne Avec un cathlon de bon diamètre (grand enfant ou adulte), on peut injecter le glucose et faire les prélèvements sur la même voie, en rinçant le cathlon très soigneusement entre les deux Préparer les seringues de G30 : ne pas utiliser de seringues d'un volume supérieur à 20 ml (la pression serait trop forte pour injecter) Effectuer les prélèvements avant l'injection : T-10 et T-5 Faire l'injection de la totalité du glucose à 30 % en exactement 3 minutes La fin de l'injection du glucose est le temps 0 (T0) du test Effectuer les prélèvements à exactement 1 et 3 minutes du test Les prélèvements peuvent être poursuivis à 10, 20 et 30 minutes, sur prescription</p>
<p><b>Examens à faire sur chaque prélèvement</b> Glycémie au laboratoire (&lt; 0,5 ml sur fluorure de sodium) Insuline (1 ml sur héparine) ± Peptide-C (1 ml sur héparine)</p>
<p><b>Résultats</b> Les résultats s'expriment par la somme des insulinémies mesurées à 1 et 3 minutes = Pic Précoce d'insulino-sécrétion, à comparer à des données adaptées à l'âge Dans certains, on peut calculer la pente de décroissance de la glycémie (test de 30 minutes)</p>

*Tableau VI. Protocole du Test au Glucagon*

<b>But</b>	Mesure de la sécrétion résiduelle d'insuline chez un patient traité par l'insuline
<b>Conditions de réalisation du test</b>	A jeun depuis la veille au soir Alimentation suffisamment riche en glucides (50 %) durant les 3 jours précédant le test
<b>Produit et posologie</b>	Glucagen R : flacon de 1 mg de glucagon en poudre + ampoule de solvant Se conserve au réfrigérateur Dose : 1 mg de Glucagen R par voie <b>intra-veineuse</b>
<b>Protocole</b>	Poser une voie d'abord : cathlon ou épicroanienne Préparer le Glucagen R Effectuer les prélèvements avant l'injection : T0 Faire l'injection de la totalité du Glucagen R Effectuer les prélèvements à 5, 10 et 15 minutes
<b>Examens à faire sur chaque prélèvement</b>	Glycémie avec une bandelette et un lecteur glycémique* Glycémie au laboratoire (< 0,5 ml sur fluorure de sodium) Peptide-C (1 ml sur héparine) ± Insuline (1 ml sur héparine), sur prescription
<b>Résultats</b>	Les résultats sont à comparer à des données établies chez des sujets contrôles

### II.3- Action de l'insuline

Il en est de même pour les méthodes d'étude de l'action de l'insuline qui sont très employées en recherche, peu en clinique, d'autant qu'elles sont généralement sophistiquées. Pour bien comprendre l'étude de l'action de l'insuline, un bref rappel physiologique est nécessaire.

Après une nuit de jeûne, la glycémie est réglée à un niveau très précis. Le foie libère en permanence une quantité de glucose exactement égale à celle qui est utilisée par les tissus. À jeun, la moitié du glucose est utilisée par le cerveau et 30 % environ par les cellules sanguines et la médullaire rénale. L'utilisation du glucose par ces tissus est indépendante de l'insuline. Seul le glucose utilisé par le muscle, 20 % du total, est sous le contrôle de l'insuline. A jeun, l'insuline n'est donc pas « la clef qui ouvre la porte des cellules au glucose ». Son rôle est de régler la glycogénolyse.

À jeun, l'hyperglycémie est due à l'augmentation de la production hépatique de glucose. Ceci a été démontré, dans les divers types de diabète, par la mesure directe de la production hépatique de glucose par la méthode de dilution isotopique. L'emploi de glucose marqué aux isotopes stables, avec mesure du rapport glucose marqué/glucose total circulant, en spectrométrie de masse couplée à la chromatographique gazeuse, permet d'effectuer ces mesures chez l'enfant.

Après un repas, la glycémie s'élève et les cellules  $\beta$  du pancréas libèrent plus d'insuline. L'augmentation de la glycémie et de l'insulinémie a deux effets : le foie ne libère plus de glucose mais reconstitue ses réserves de glycogène ; le glucose est utilisé par le muscle en grande quantité. En période post-prandiale, l'action de l'insuline s'exerce donc à la fois au niveau du foie et du muscle.

En période post-prandiale, l'hyperglycémie est due à une augmentation de la production hépatique de glucose et/ou à une diminution de l'utilisation de glucose par le muscle. Ce dernier paramètre peut être évalué par diverses techniques. La méthode de référence est le clamp hyperinsulinémique euglycémique, qui consiste à perfuser de l'insuline et à empêcher la glycémie de baisser en perfusant du glucose, en adaptant le débit de glucose à l'aide d'algorithmes basés sur des mesures répétées de la glycémie. La production hépatique de glucose étant normalement bloquée par l'hyperinsulinémie, le glucose capté par les tissus est égal au glucose perfusé. La quantité de glucose perfusée mesure donc la capacité des tissus à utiliser le glucose sous l'action d'un niveau plasmatique défini d'insuline. La perfusion successive de débits croissants d'insuline permet d'établir une courbe de l'utilisation de glucose en fonction des concentrations d'insuline. Par référence à des sujets contrôles, la résistance à l'insuline se traduit par un décalage de la courbe dose-réponse vers la droite (il faut plus d'insuline pour utiliser la même quantité de glucose), ou par une diminution de la capacité maximale à capter le glucose. Le clamp couplé à la dilution isotopique et à la calorimétrie indirecte, qui détermine quelle proportion du glucose est oxydée par les tissus, donne une description très complète des flux de glucose. D'autres méthodes évaluent la sensibilité à l'insuline à partir du rapport insuline/glucose à jeun (modèle HOMA), l'effet de l'insuline endogène (modèle minimal au cours d'une HGPIV, modèle CIGMA au cours d'une perfusion continue de glucose) ou de l'insuline exogène (test de tolérance à l'insuline, perfusion simultanée d'insuline et de glucose).

Comme cela a déjà été indiqué, ces explorations sont généralement réalisées sur des groupes de patients ayant une forme particulière de diabète, pour en expliquer les mécanismes. Au niveau individuel, seuls l'HGPO, l'HGPIV et le test au glucagon sont couramment utilisés.

### ■ III. RECHERCHE DE L'ÉTIOLOGIE

---

Les explorations métaboliques apportent peu d'arguments pour différencier les différents types de diabète, en particulier le type 1 du type 2. C'est plus sur des éléments génétiques ou immunologiques qu'on commence à pouvoir les distinguer.

#### III.1- Diabète de type 1

Pour que le diabète se développe, il faut une prédisposition génétique et un facteur déclenchant, d'environnement, qui engendre des processus auto-immuns détruisant sélectivement les cellules  $\beta$  des îlots de Langerhans. Les études de jumeaux montrent que les facteurs génétiques représentent environ 50 % du déterminisme du diabète. Ce n'est pas la maladie qui est transmise, mais une susceptibilité à la maladie. Ce terrain est en grande partie déterminé par des gènes du complexe HLA : les antigènes HLA DR<sub>3</sub> et DR<sub>4</sub> sont présents chez plus de 90 % des patients contre 50 % des sujets témoins. Le risque est particulièrement élevé pour les hétérozygotes DR<sub>3</sub>/DR<sub>4</sub>, ce qui montre que la susceptibilité dépend d'une complémentarité entre les deux gènes. Ce n'est pas l'antigène DR qui est directement impliqué, mais un locus voisin, DQ : les gènes de susceptibilité ont, dans la plupart des cas, deux séquences nucléotidiques particulières, DQ bêta 57 aspartate-négatif et DQ alpha 52 arginine-positif. Le rôle des molécules HLA semble lié à leur fonction de site de liaison des

antigènes qu'elles présentent ensuite aux lymphocytes T pour déclencher la réponse immunitaire. La présence de certains acides aminés peut déterminer la spécificité de la molécule DQ à présenter un auto-antigène pancréatique. La prédisposition au diabète dépend aussi d'une quinzaine d'autres gènes, dont le gène promoteur de l'insuline.

La nature auto-immune de la destruction des cellules  $\beta$  est définitivement établie, mais on ne connaît pas le ou les antigène(s) cible(s) de l'agression immunitaire. Les anticorps détectés au moment du diagnostic sont secondaires à l'agression immunitaire des îlots, mais leur rôle dans la destruction de la cellule  $\beta$  reste à préciser. Les auto-anticorps ont une forte valeur prédictive du diabète, en particulier chez les apparentés des patients diabétiques. On recherche plusieurs anticorps, le risque augmentant avec le nombre d'anticorps positifs : anticorps anti-cellules d'îlots (ICA), anti-GAD (glutamate décarboxylase), anti-IA-2 (insulinoma-associated protein 2), anti-insuline...

Le processus auto-immun est déclenché, chez les sujets génétiquement prédisposés, par des facteurs d'environnement. Ces facteurs ne sont pas connus, mais on sait qu'ils précèdent de plusieurs années les signes cliniques de diabète. De nombreux arguments plaident pour un rôle des virus. Les virus pourraient induire les réponses auto-immunes contre des protéines exprimées par les cellules  $\beta$  et présentant des analogies de séquences avec les antigènes viraux. Ce mécanisme pourrait aussi expliquer le rôle déclenchant de protéines alimentaires, comme les protéines du lait de vache.

La recherche des sujets à risque de développer un diabète est basée sur l'étude des groupes HLA, la recherche des auto-anticorps et l'état métabolique. Pour l'instant, elle est surtout pratiquée dans les fratries des patients diabétiques, qui ont un risque global d'environ 5 %. Les sujets HLA DR<sub>3,4</sub> ou qui ont deux haplotypes en commun avec le patient diabétique ont un risque de 10-20 %, alors que le risque est presque nul chez les frères et sœurs HLA-différents. L'absence d'anticorps n'exclut pas le risque de diabète alors que le risque peut atteindre 50 à 100 % avec 2, 3 ou 4 auto-anticorps positifs.

Chez les sujets ayant un risque génétique ou des anticorps, une intolérance au glucose (hyperglycémie provoquée orale) ou une baisse de l'insulino-sécrétion (hyperglycémie intra-veineuse) accroît le risque de voir le diabète apparaître à brève échéance (quelques mois). L'intérêt de la recherche des marqueurs de risque est de pouvoir souvent rassurer les familles, de débiter l'insulinothérapie précocement, avant que le diabète s'exprime cliniquement et de proposer aux sujets à haut risque de participer aux essais thérapeutiques en cours.

### **III.2- Autres types de diabète**

Dans le DNID, on n'a actuellement aucun marqueur génétique. Ce sont des arguments cliniques (caractère familial, origine ethnique, obésité...) et l'absence des marqueurs génétiques et immunologiques du diabète de type 1 qui permettent de faire la différence entre DNID et DID. C'est un problème qui va se poser avec une fréquence croissante en pédiatrie. C'est une question qui se pose aussi dans les diabètes induits par les corticoïdes, qui sont rares mais certainement pas fortuits. On trouve, en effet, une fréquence élevée d'antécédents familiaux de DNID dans ces circonstances et il est très probable que les corticoïdes font s'exprimer précocement un défaut de régulation du métabolisme qui ne se serait exprimé autrement que des dizaines d'années plus tard. D'autres traitements

« agressifs », par exemple les nutriments parentéraux ou entéraux, peuvent faire apparaître une hyperglycémie précocement. Toutes ces situations créent un besoin accru en insuline auquel le pancréas de certains sujets ne peut pas parfaitement répondre.

La liste des gènes impliqués dans des formes particulières et souvent très rares du diabète de l'enfant commence à s'allonger. Dans l'hyperglycémie non-insulino-dépendante du jeune ou MODY, 5 gènes ont maintenant été identifiés, représentant plus de 80 % des familles connues, en France : mutations du gène de la glucokinase ou de gènes codant pour des facteurs de transcription (HNF-1 $\alpha$ , HNF-4 $\alpha$ , HNF-1 $\beta$ , IPF1). On a pu montrer d'importantes différences dans l'expression clinique des différents génotypes. Des anomalies ont été identifiées dans le diabète néo-natal. La forme transitoire est souvent associée à une isodisomie uniparentale du chromosome 6, tandis que des mutations ont été décrites sporadiquement dans les formes définitives sur des gènes codant pour des facteurs de transcription ou des facteurs de développement du pancréas. Parmi les syndromes de résistance à l'insuline, certains sont liés à des mutations du gène du récepteur de l'insuline ; deux localisations ont été associées à la lipotrophie généralisée, en 9q34 et 11q13. Des formes rares de diabète familial ont une transmission dominante (mutations du gène de l'insuline, hyperproinsulinémie familiale) ou maternelle (diabète mitochondrial) (Tableau I). Les recherches de ces mutations ne sont faites que dans un ou deux laboratoires chacune et doivent être justifiées par un contexte clinique particulier.

## ■ IV. SUIVI DU TRAITEMENT

---

Une fois le diagnostic établi et le traitement institué, le suivi se fait au rythme d'une consultation tous les 2-3 mois (dans le DID) et d'un bilan annuel tous les ans, généralement en hôpital de jour.

### IV.1- Hémoglobine glyquée

À chaque consultation, on mesure l'hémoglobine glyquée.

La glycation est une liaison chimique non-enzymatique entre la structure aldéhyde ou cétone d'un glucide et l'azote terminal d'un acide aminé. Cette réaction, d'abord réversible, donnant une base de Schiff, est suivie par un réarrangement décrit par Amadori, donnant une céto-amine stable. L'importance de ces liaisons dépend de la concentration et du temps de contact entre glucose et acide aminé. Pour l'hémoglobine, le temps de contact est celui de la durée de vie des globules rouges. Ainsi, le taux de glycation de l'hémoglobine, qui est mesuré sur la fraction A1c, correspond à la demi-vie des globules rouges, soit environ 2-3 mois.

Dès que l'hémoglobine glyquée a été disponible, sa relation a été clairement établie avec l'équilibre glycémique moyen. Plus récemment, l'HbA1c a reçu une validation encore plus probante, de l'étude Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) qui a montré qu'elle est un prédicteur fiable du risque de microangiopathie, le critère objectif indispensable au suivi du traitement du diabète.

Il existe un assez grand nombre de techniques du dosage de l'HbA1c. La méthode de référence est la chromatographie liquide à haute pression (HPLC). Il existe aussi des appareils de mesure qui permettent au clinicien d'avoir le résultat en quelques minutes, ce qui peut avoir un grand intérêt dans certaines consultations. Pour l'enfant, il est important de pouvoir faire les prélèvements en micro-méthode, ce qui est faisable en HPLC ou avec les appareils instantanés.

La glycation peut se mesurer sur d'autres protéines, comme l'albumine (dosage des fructosamines). L'intérêt de ces dosages, chez l'enfant, se limite aux cas où il existe des mutations homozygotes de l'hémoglobine qui interfèrent avec le dosage. La présence d'hémoglobine fœtale ou la prise de certains médicaments modifient aussi le résultat du dosage de l'HbA1c avec certaines méthodes.

## **IV.2- Bilan annuel**

Le bilan annuel a deux objectifs principaux : faire le point avec l'enfant et les parents sur les aspects médicaux, techniques, diététiques et psychologiques ; dépister les complications spécifiques du diabète. La recherche de complications n'est pas justifiée avant le début de l'adolescence ou cinq ans de traitement par l'insuline, aucune complication n'étant alors trouvée, sauf dans des circonstances tout à fait catastrophiques de traitement qui s'accompagnent toujours d'un ralentissement de la croissance. Les complications spécifiques du diabète sont celles liées à la microangiopathie, qui est due à la glycation des protéines de la membrane basale des petits vaisseaux et qui touche les yeux, les reins et les nerfs. L'évolution de ces anomalies est très lente et, chez l'enfant et l'adolescent, on recherche des manifestations les plus précoces de microangiopathie. Cela se fait à l'aide de l'examen du fond d'œil ou de l'angiographie rétinienne pour la rétinopathie, la prise de la pression artérielle et le dosage de la microalbuminurie pour la néphropathie, l'examen neurologique (abolition des réflexes ostéo-tendineux, troubles de la sensibilité superficielle ou profonde) et la mesure des vitesses de conduction nerveuse pour la neuropathie.

Le dosage de la microalbuminurie a pour but de chercher les signes très précoces d'une atteinte rénale. Pour affirmer l'existence d'une microalbuminurie, il faut qu'au moins trois prélèvements sur quatre soient pathologiques. La mesure peut se faire sur un échantillon d'urine isolé, de préférence le matin au réveil. Pour quantifier plus précisément la mesure, on peut demander au patient de recueillir la totalité des urines du coucher au réveil, en notant les heures de début et de fin de recueil et en mesurant le volume total d'urine (Tableau VII). On peut aussi rapporter la microalbuminurie à la créatininurie. Normalement, la microalbuminurie est inférieure à 30 mg/l ou 20 µg/min. Chez l'enfant, la décision de mettre en route un traitement, par un inhibiteur de l'enzyme de conversion, est plus prudente que chez l'adulte dans la mesure où des normalisations ont été décrites avec l'amélioration de l'équilibre glycémique. Le dosage de la microalbuminurie se fait habituellement par néphélométrie.

Les complications liées à la macroangiopathie (athérosclérose) ne se voient pas chez l'enfant et l'adolescent. Néanmoins, il est de bonne pratique de relever l'existence de facteurs de risque (hypertension artérielle, hyperlipidémie, tabac, contraception orale) et de sensibiliser les jeunes à ces problèmes, au même titre que tout ce qui concerne la prise en charge du diabète.



**Tableau VII. Protocole de recueil des urines pour dosage de la microalbuminurie nocturne**

### Recueil des urines de la nuit

NOM : ..... Prénom : .....

1. Avant de commencer le recueil des urines de la nuit, réponds aux questions suivantes :

Es-tu traité(e) pour une infection urinaire ? ..... **OUI** **NON**

As-tu de la fièvre ?..... **OUI** **NON**

Est-ce que tu as fait du sport de façon intense  
et inhabituelle au cours des 24 dernières heures ? ..... **OUI** **NON**

Est-ce que tu as tes règles ? ..... **OUI** **NON**

**Si tu réponds OUI à une de ces questions, ne fais pas le recueil d'urines.**

2. Pour le recueil d'urines, utilise le grand flacon gradué fourni par l'hôpital.

3. **Au moment du coucher :**

Urine dans les toilettes, comme d'habitude.

Note l'heure ici : .....

4. **Si tu urines pendant la nuit :**

Recueille les urines dans le flacon, impérativement.

5. **Le matin, dès que tu es levé(e) :**

Urine dans le flacon.

Note l'heure ici : .....

6. **À l'arrivée à l'hôpital : Remettre cette feuille à l'infirmier(ère).**

Question à compléter par l'infirmier(ière) :

As-tu mis toutes les urines de la nuit dans le flacon ? ..... **OUI** **NON**

## RÉFÉRENCES

1- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Principles of nutrition and dietary recommendations for individuals with Diabetes Mellitus. Diabetes. 1979, 28 : 1027-1030.

2- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Type 2 diabetes in children and adolescents. Diabetes care. 2000, 23 : 381-389.

- 3- ARMBRUSTER D.A. Fructosamine: structure, analysis, and clinical usefulness. *Clin. Chem.* 1987, 33 : 2153-2163.
- 4- BERGMAN R.N., FINEGOOD D.T., ADER M. Assessment of insulin sensitivity in vivo. *Endocrine Rev.* 1985, 6 : 45-86.
- 5- BIER D.M., ARNOLD K.J., SHERMAN W.R., HOLMES W.F., KIPNIS D.M. In vivo measurement of glucose and alanine metabolism with stable isotopic tracers. *Diabetes.* 1977, 26 : 1005-1015.
- 6- DE FRONZO R.A., TOBIN J.D., ANDRES R. Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am. J. Physiol.* 1979, 237 : E214-E223.
- 7- DORCHY H. (R)évolutions de la diabétologie pédiatrique et optimisation du traitement. *Ann. Pédiatr. Paris.* 1998, 45 : 521-529.
- 8- FAAS S., TRUCCO M. The genes influencing the susceptibility to IDDM in humans. *J. Endocrinol. Invest.* 1994, 17 : 177-195.
- 9- FÖSEL S. Transient and permanent neonatal diabetes. *Eur. J. Pediatr.* 1995, 154 : 944-948.
- 10- GILLERY P., DUMONT G., VASSAULT A. Evaluation of GHb assays in France by national quality control surveys. *Diabetes Care.* 1998, 21 : 265-270.
- 11- KJEMS L.L., CHRISTIANSEN E., VOLUND A., BERGMAN R.N., MADSBAD S. Validation of methods for measurement of insulin secretion in humans in vivo. *Diabetes.* 2000, 49 : 580-588.
- 12- LES MÉDECINS DE LA COMMISSION PÉDAGOGIQUE DE L'AJD. *Les Cahiers de l'AJD. L'Aide aux Jeunes Diabétiques.* Paris. 1993-1998.
- 13- LUNDGREN H., BENGTSSON C., BLOHME G., LAPIDUS I., WALDENSTRÖM J. Fasting serum insulin concentration and early insulin response as risk determinants for developing diabetes. *Diabetic Med.* 1990, 7 : 407-413.
- 14- MOGENSEN C.E. Microalbuminuria, blood pressure and diabetic renal disease: origin and development of ideas. *Diabetologia.* 1999, 42 : 263-285.
- 15- MOLLER D.E., O'RAHILLY S. Syndromes of severe insulin resistance: clinical and pathophysiological features. In: *Insulin Resistance*, Moller D.E., Ed. Wiley and Sons. New York. 1993 : 49-81.
- 16- NATHAN D.M., SINGER D.E., HURXTHAL K., GOODSON J.D. The clinical information value of the glycosylated hemoglobin assay. *N. Engl. J. Med.* 1984, 310 : 341-346.
- 17- ONKAMO P., VÄÄNÄNEN S., KARVONEN M., TUOMILEHTO J. Worldwide increase in incidence of type I diabetes - the analysis of the data on published incidence trends. *Diabetologia.* 1999, 42 : 1395-1403.
- 18- POPE R.M., APPS J.M., PAGE M.D., ALLEN K., BODANSKY H.J. A novel device for the rapide in-clinic measurement of Haemoglobin A1c. *Diabetic Med.* 1993, 10 : 260-263.
- 19- POZZILLI P. Prevention of insulin-dependent diabetes: where are we now? *Diabetes Metab. Rev.* 1996, 12 : 127-135.

- 20- RIZZA R., MANDARINO L., GERICH J. Dose-response for effects of insulin on production and utilization of glucose in man. *Am. J. Physiol.* 1981, 240 : E630-E639.
- 21- ROBERT J.J., DESCHAMPS I., CHEVENNE D., ROGER M., MOGENET A., BOITARD C. Relationship between first-phase insulin secretion and age, HLA, islet cell antibody status, and development of type 1 diabetes in 220 juvenile first-degree relative of diabetic patients. *Diabetes Care.* 1991, 14 : 718-723.
- 22- ROBERT J.J., TETE M.J., CROSNIER H., BROYER M. Diabète sucré après transplantation rénale chez l'enfant. *Ann. Pédiatr. (Paris)* 1993, 40 : 112-118.
- 23- ROBERT J.J. Diabète et acido-cétose. *Les Urgences Pédiatriques.* Cheron G., Ed. Expansion Scientifique Française, 1996, 152-157.
- 24- ROBERT J.J., LENOIR G. Le diabète de la mucoviscidose. In: *La mucoviscidose de l'enfant à l'adulte.* Derelle J., Hubert D., Scheid P., Eds. John Libbey Eurotext, Montrouge, 1998, pp. 87-95.
- 25- STUMVOLL M., MITRAKOU A., PIMENTA W., JENSSEN T., YKI-JÄRVINEN H., HAEFTEN T.V., RENN W., GERICH J. Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes Care.* 2000, 23 : 295-301.
- 26- THE DIABETES CONTROL AND COMPLICATIONS TRIAL RESEARCH GROUP. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N. Engl. J. Med.* 1993, 329 ; 977-986.
- 27- THE EXPERT COMMITTEE ON THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF DIABETES MELLITUS. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 2001, 24 : S5-S20.
- 28- VELHO G., ROBERT J.J. L'hyperglycémie non-insulinoprive de l'enfant. *Méd. Thérap. Endocrinol.* 1999, 1 : 288-291.
- 29- VERGE C.F., STENGER D., BONIFACIO E., COLMAN P.G., PICHER C., BINGLEY P.J., EISENBARTH G.S. Combined use of autoantibodies (IA-2 ab, GAD ab, IAA, ICA) in type 1 diabetes: combinatorial islet antibody workshop. *Diabetes.* 1998, 47 : 1857-1866.

## ■ INTRODUCTION

---

L'utilisation de marqueurs biochimiques est indispensable pour la prise en charge des enfants présentant une menace vitale nécessitant leur admission en réanimation pédiatrique. La défaillance d'un ou de plusieurs organes s'accompagne toujours de perturbations biochimiques qui peuvent s'exprimer par la présence de marqueurs biochimiques plus ou moins spécifiques de ces organes : ionogramme : état d'hydratation ; insuffisance rénale : augmentation de l'urée et de la créatinine ; défaillance hépatique : cytolyse, altération de l'hémostase  $\pm$  hyperamoniémie... Ces paramètres biochimiques ne diffèrent pas de ceux qui sont utilisés en réanimation adulte. Par contre, les résultats seront interprétés en fonction des normes pédiatriques, du degré d'urgence variable en fonction de l'âge de l'enfant et des pathologies plus spécifiquement rencontrées dans cette tranche d'âge en particulier.

Par ailleurs, la taille de certains enfants (grands prématurés) impose une adaptation du volume des prélèvements sanguins à la masse sanguine de l'enfant. Un prématuré pesant 1 000 g et dont le volume sanguin circulant est de 80 ml ne peut supporter le prélèvement de 5 ml de sang pour la réalisation d'un ionogramme comme cela est couramment réalisé pour les patients adultes dont le volume sanguin est d'environ 5 l. Cela a entraîné la mise au point de méthodes d'analyses biochimiques dites en « micro méthode » qui permet la détermination des mêmes paramètres biochimiques sur des volumes sanguins extrêmement réduits.

Cette revue a pour objectif d'analyser les principaux paramètres biochimiques utilisés couramment en réanimation pédiatrique. Nous envisagerons leur nature, leur méthode de dosage, leur signification physiopathologique, les principales perturbations qui peuvent survenir chez les enfants, le degré d'urgence qu'ils traduisent, en particulier les valeurs qui reflètent une perturbation particulièrement grave pouvant nécessiter une thérapeutique particulièrement urgente. Enfin, pour certains de ces paramètres, nous citerons certaines sources d'erreurs possibles liées au prélèvement, à l'acheminement ou à l'interprétation des résultats.

## ■ I. LE IONOGRAMME

---

### *a- Le sodium*

Le sodium est le principal cation extracellulaire de l'organisme. Son espace de diffusion représente 60 % de l'organisme. Il est un support essentiel de l'osmolalité plasmatique et urinaire. Il préside aux mouvements d'eau intra et extra cellulaire. Il est directement lié

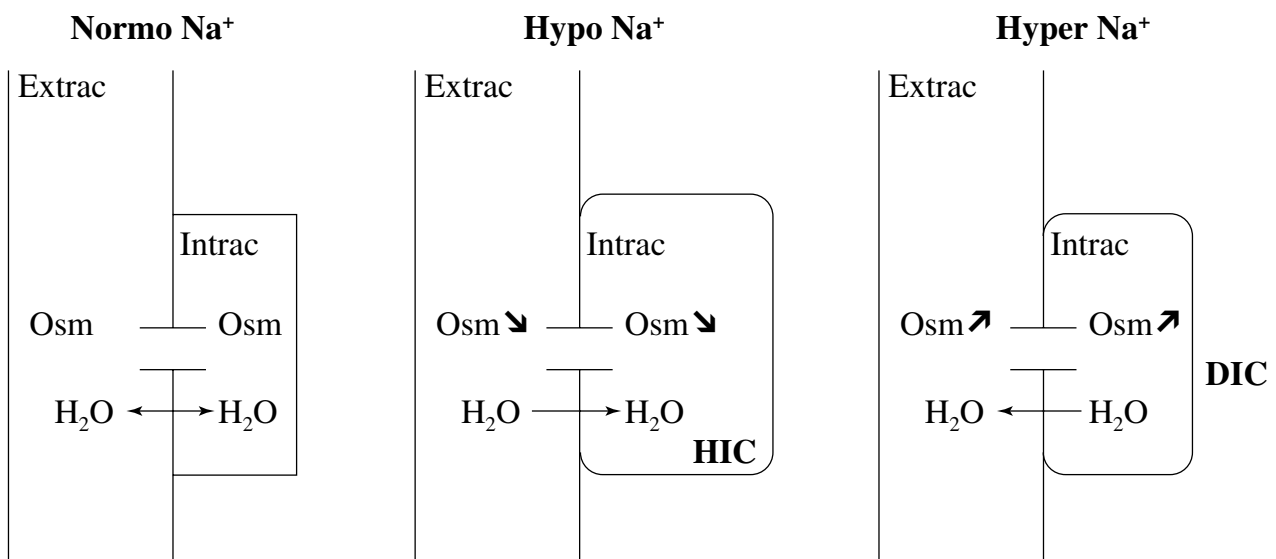
avec l'état d'hydratation intracellulaire. Une hyponatrémie représentera un œdème cellulaire, une hypernatrémie sera liée à une déshydratation intracellulaire.

Sa concentration plasmatique est finement régulée pour rester constamment entre 140 et 145 mEq/L. Cette natrémie peut être corrigée en fonction de la concentration des protéines et ramenée au litre d'eau : si  $Na^+ = 143$  mEq/L avec une protidémie de 70 g/L, il y a en réalité 930 mL d'eau/l de plasma, la natrémie est donc de  $143/0,93 = 152$  mEq/L d'eau. Cette concentration en sodium est celle de certains liquides de remplissage. Les apports de sodium vont influencer l'hydratation extracellulaire. Les perturbations de la natrémie seront le reflet des anomalies de l'hydratation intracellulaire.

À état d'hydratation extracellulaire identique, la natrémie qui représente la composante majeure de l'osmolalité, va gérer les mouvements d'eau entre les secteurs intra et extracellulaires. Une natrémie basse entraîne une baisse de l'osmolalité plasmatique et l'eau passe préférentiellement vers le secteur intracellulaire créant ainsi un œdème intracellulaire. A contrario, une hypernatrémie entraîne une augmentation de l'osmolalité et l'eau a tendance à venir du secteur cellulaire vers le secteur extra cellulaire, ce qui a pour conséquence une déshydratation intracellulaire. Ceci explique pourquoi il est impossible d'évaluer correctement l'état d'hydratation extracellulaire sur la seule natrémie ce qui est malheureusement trop souvent réalisé. La multiplicité des étiologies des dysnatrémies reflète bien ce problème. Une juste analyse de la séméiologie biochimique est donc indispensable pour adapter en urgence le traitement à la réalité de l'hydratation intracellulaire.

Na <sup>+</sup> (× 8)	
Tube	Hépariné
Méthode	PI/ES
Volume* M	5 ml, 50 µL
Volume* µ E	0,5 ml, 50 µL
Volume* µ P	0,4 ml, 45 µL
Urgence	+++

M : Macrométhode  
 µ E : Microméthode enfant  
 µ P : Microméthode prématuré  
 × 8 : Ensemble de 8 paramètres dosés ensemble : Na, K Cl, Glc, Urée, Créat, Ca, Prot  
 PI/ES : Potentiométrie indirecte par électrode spécifique  
 \* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.



**Figure n° 1 :** Régulation de l'hydratation intracellulaire par la natrémie, principal constituant de l'osmolalité. HIC : hyperhydratation intracellulaire, DIC : déshydratation intracellulaire, Na<sup>+</sup> : natrémie, Extrac : extracellulaire, Intrac : intracellulaire, Osm : osmolalité

La régulation de la natrémie dépend des apports d'eau et de sodium, du bon fonctionnement du rein, principal émonctoire de sodium, qui pourra ainsi réguler la récupération ou l'élimination du sodium en fonction de l'osmolalité et de la volémie. Le rein fonctionne sous la dépendance de plusieurs systèmes hormonaux impliqués dans la régulation de la natrémie : système rénine-angiotensine, aldostérone, facteur atrial natriurétique...

Chez l'enfant, étant donné le faible volume du compartiment extracellulaire, les variations de la volémie et de la natrémie apparaissent beaucoup plus rapidement que chez l'adulte. L'hypovolémie peut donc devenir rapidement grave (collapsus, acidose lactique) et nécessiter un traitement rapide. Le risque de faire varier rapidement l'osmolalité en administrant un volume important de soluté avec un contenu en sodium non adapté à la natrémie, impose de disposer du dosage de la natrémie dans l'heure qui suit le début de la prise en charge afin de pouvoir adapter le contenu en sodium de la perfusion.

L'hyponatrémie est définie par une natrémie,  $< 135$  mEq/L. Elle devient sévère en dessous de 120 mEq/L. Elle peut être la conséquence soit d'un excès d'eau, soit d'une perte de sodium isolée ou proportionnellement supérieure à la perte d'eau concomitante. Dans le premier cas, il y a une hémodilution (baisse de l'hématocrite et de la protidémie) dans le second, il y a une hémococoncentration (augmentation de ces deux paramètres). Les principales causes de l'hyponatrémie par dilution sont représentées par l'insuffisance rénale oligoanurique, l'insuffisance cardiaque, les insuffisances hépatiques, le syndrome de sécrétion inapproprié d'ADH (lors des pneumopathies) et les causes iatrogéniques. Les hyponatrémies par déplétion sont dues essentiellement aux pertes digestives : diarrhée, vomissements ; aux pertes cutanées : mucoviscidose, brûlures et aux pertes urinaires : diurétiques, insuffisance surrénalienne. Le diagnostic s'appuiera sur la clinique, mais aussi sur la natriurèse et sur l'osmolalité urinaire.

L'hypernatrémie est souvent plus grave que l'hyponatrémie car elle est associée à une déshydratation intracellulaire avec risque d'œdème cérébral secondaire si la correction de la natrémie est trop rapide. En général associée à une déshydratation d'origine digestive, elle peut être la cause d'une erreur de prescription des perfusions, ou d'une administration excessive de sodium soit dans le biberon de façon volontaire dans le cadre de sévices à enfants soit en raison d'une mauvaise reconstitution des solutés de réhydratations avec non-respect des consignes de dilution de ces produits. Elle se voit enfin dans certains cas de déficit d'apport hydrique chez des nourrissons hyperthermiques ou situés dans des environnements chauds sans ventilation (coup de chaleur). Le diagnostic se fera sur la clinique et sur l'analyse du ionogramme urinaire, la correction devra toujours être extrêmement progressive (0,5 à 1 mEq/heure) pour ne pas induire un œdème cérébral aux conséquences souvent graves.

### ***b- Le potassium***

Le potassium est le principal cation intracellulaire (98 % du potassium total) et la kaliémie ne reflète pas le stock potassique de l'organisme. Les variations de la kaliémie entraînent un risque majeur de troubles du rythme voire d'arrêt cardiaque. Ceci rend ce dosage très urgent dès qu'il y a une suspicion d'hyperkaliémie. De plus la kaliémie dépend de l'équilibre acide-base et d'une éventuelle hémolyse du prélèvement.

Sa concentration plasmatique est finement régulée pour rester constamment entre 3,8 à 4,6 mEq/L. Une baisse du pH de 0,1 entraîne une élévation de la kaliémie de 0,6 mEq/L.

Le prélèvement en microméthode (qui entraîne souvent une hémolyse) peut être responsable d'une surestimation de la kaliémie, le danger étant alors de négliger une hyperkaliémie sous prétexte qu'elle a été prélevée par microméthode. De toute façon, au moindre doute, un ECG sera réalisé pour confirmer ou infirmer la réalité de la dyskaliémie (ondes T amples et symétriques en cas d'hyperK<sup>+</sup>, décalage inférieur du segment ST en cas d'hypoK<sup>+</sup>) et prendre ainsi les mesures thérapeutiques nécessaires.

La kaliémie est également régulée au niveau rénal par l'aldostérone. L'hyperaldostéronisme entraîne une hypokaliémie, par contre l'insuffisance rénale est toujours à risque d'hyperkaliémie par déficit de ce facteur régulant de la kaliémie.

L'hyperkaliémie peut mettre en jeu le pronostic vital dès 6,5 mEq/L par troubles de l'excitabilité myocardique (risque de syncope et d'arrêt cardiaque). Les principales causes en sont l'insuffisance rénale, l'insuffisance surrénale et toutes les acidoses qui vont entraîner un transfert parfois brutal du potassium intracellulaire vers le secteur extracellulaire.

L'hypokaliémie est beaucoup plus fréquente et mieux supportée. Elle est le plus souvent la conséquence de pertes digestives (diarrhée, vomissements) plus rarement rénales (syndrome de Bartter). L'hypokaliémie peut également survenir lors du traitement de certaines déshydratations, surtout lors de la correction trop rapide d'acidoses métaboliques ce qui entraîne un transfert de potassium du secteur extra vers le secteur intracellulaire (acidocétose diabétique par exemple). Les hyperaldostéronismes primaires sont exceptionnels chez l'enfant. Enfin il faut noter le syndrome de Westphal qui entraîne des épisodes de paralysies aiguës par hypokaliémie de transfert du milieu extra vers le milieu intracellulaire lors d'une charge en glucides par exemple.

En réanimation, le potassium est une préoccupation constante, il fait partie des dosages dont l'urgence et la répétition peuvent être absolues en fonction du contexte clinique. Les moyens thérapeutiques actuels doivent permettre d'éviter les conséquences de cette perturbation hydroélectrolytique qui reste potentiellement la plus grave qui puisse survenir.

### c- Le chlorure

Le chlorure est l'anion majeur du milieu extracellulaire. Il est avec le Na<sup>+</sup> le principal support de l'osmolalité du plasma et des liquides interstitiels. Son métabolisme est en relation très étroite avec celui de l'anion bicarbonate : HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Le plus souvent une variation des chlorures sera accompagnée d'une variation inverse du bicarbonate. 70 % des chlorures totaux se situent dans le milieu extracellulaire. Les cellules contenant environ 25mEq/L des chlorures.

K <sup>+</sup> (× 8)	
Tube	Hépariné
Méthode	PI/ES
Volume* M	5 ml, 50 µL
Volume* µ E	0,5 ml, 50 µL
Volume* µ P	0,4 ml, 45 µL
Urgence	+++

M : Macrométhode  
 µ E : Microméthode enfant  
 µ P : Microméthode prématuré  
 × 8 : Ensemble de 8 paramètres dosés ensemble : Na, K Cl, Glc, Urée, Créat, Ca, Prot  
 PI/ES : Potentiométrie indirecte par électrode spécifique  
 \* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

Cl <sup>-</sup> (× 8)	
Tube	Hépariné
Méthode	PI/ES
Volume* M	5 ml, 50 µL
Volume* µ E	0,5 ml, 50 µL
Volume* µ P	0,4 ml, 45 µL
Urgence	++

M : Macrométhode  
 µ E : Microméthode enfant  
 µ P : Microméthode prématuré  
 × 8 : Ensemble de 8 paramètres dosés ensemble : Na, K Cl, Glc, Urée, Créat, Ca, Prot  
 PI/ES : Potentiométrie indirecte par électrode spécifique  
 \* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

Les chlorures se mesurent dans le plasma (98 – 105 mEq/L) mais aussi dans les urines et dans le LCR (127 mEq/L). En réanimation pédiatrique, les altérations des chlorures sanguins suivent le plus souvent de façon parallèle les altérations de la natrémie. Néanmoins, une déperdition chlorurée peut survenir par plusieurs mécanismes. Les pertes digestives (en particulier les vomissements et les aspirations digestives prolongées) vont entraîner une perte chlorurée parfois majeure. L'exemple type est donné par la sténose du pylore chez le petit nourrisson qui se présente avec une déshydratation sévère associée à une alcalose hypochlorémique et non à une acidose métabolique comme cela est habituel lors des déshydratations. La déperdition chlorurée pourra également se faire par voie digestive basse (diarrhée chlorée congénitale) ou parfois par voie cutanée (mucoviscidose). Dans ce dernier cas, le test de la sueur montre une concentration de chlorure sudoral supérieure à 60 mEq/L.

Au niveau du néphron, en cas de déficit en chlore, l'anion réabsorbé avec le sodium est le bicarbonate, ce qui explique l'alcalose métabolique le plus souvent associée aux hypochlorémies. A contrario, les états d'acidoses métaboliques avec baisse des bicarbonates seront le plus souvent hyperchlorémique pour la même raison. Une acidose métabolique avec chlorures normaux devra faire suspecter la présence d'un autre anion indosé (hors chlorure et bicarbonate) : corps cétoniques, intoxication, maladies métaboliques héréditaires du métabolisme...

#### ***d- Le bilan ionique urinaire***

Le ionogramme urinaire doit toujours être associé au dosage de l'urée et de la créatinine urinaire afin de pouvoir apprécier l'adaptation urinaire à la volémie et l'état de la fonction rénale. Ce bilan pourra être artificiellement altéré par des médicaments, en particulier par la prise de diurétique, fréquente en réanimation. Par ailleurs, toutes les altérations de la natrémie (avec ou sans déshydratation) seront analysées en fonction du bilan urinaire.

Les ions  $\text{Na}^+$  et  $\text{Cl}^-$  sont les principaux supports de l'osmolalité urinaire. À l'état physiologique, l'osmolalité urinaire est régulée en permanence afin d'assurer la stabilité de l'osmolalité plasmatique. Les pertes urinaires d'eau et d'électrolytes sont adaptées aux apports. En réanimation, les variations de la volémie, de la natrémie, l'existence d'une insuffisance rénale, la présence de médicaments diurétiques peuvent grandement modifier ces paramètres qui devront être interprétés en fonction du contexte clinique.

Le rapport Na/K urinaire est un index de l'activité de l'aldostérone. Ce système, mis en jeu en cas d'hypovolémie, entraîne une réabsorption de sodium contre du potassium au niveau du tube contourné distal et par conséquent va inverser ce rapport normalement  $> 1$ . La présence d'un diurétique (habituellement le furosémide) entraîne une natriurèse obligatoire qui peut masquer l'inversion du rapport Na/K même en cas d'hypovolémie. Dans le cadre d'une insuffisance rénale, l'inversion de ce rapport est un argument fondamental (associé à l'augmentation du rapport urée urinaire/urée plasmatique) pour juger de son origine prérénale.

Dans le cas d'une hyponatrémie avec déshydratation et diurèse conservée, le ionogramme urinaire en montrant la perte de sodium paradoxale étant donné la volémie, fera très rapidement évoquer une insuffisance corticosurrénalienne et permettra d'adapter le traitement en urgence.



## ■ II. L'ÉQUILIBRE ACIDE-BASE

### a- Le pH sanguin

Les perturbations de l'équilibre acido-basique sont si fréquentes en réanimation que sa mesure doit être systématique dans toutes les situations aiguës. Cet équilibre est apprécié par la mesure du pH, du CO<sub>2</sub> total, des bicarbonates et du déficit en bases ou « base excess ». Ce dernier paramètre correspond à la différence entre les tampons sanguins mesurés et les tampons réels (bicarbonates, protéines, phosphates, hémoglobine).

La régulation du pH dépend du système bicarbonate/acide carbonique. L'équilibre est maintenu grâce à l'élimination du CO<sub>2</sub> volatil qui vient de l'acide carbonique et par la réabsorption au niveau rénal des bicarbonates. Il y a plusieurs systèmes de tampons de rapidité différentes qui vont agir en fonction : hémoglobine ou système osseux qui permettront une compensation aiguë ou chronique du pH.

	Val. normales
pH	7,40 ± 0,02
CO <sub>2</sub> total (mm Hg)	40 ± 2
(kPa)	5,3 ± 0,3
BE (mEq/L)	- 0,8 ± 2
Bicarbonates (mmol/L)	25,7 ± 2,2

Va : Valeurs ; Tot : total ; BE : Base Excess.

Ces paramètres ne peuvent être appréciés valablement que si les conditions de prélèvement respectent les précautions suivantes : sang capillaire artérialisé, prélèvement « facile », atraumatique, le sang doit « couler » facilement, purge suffisante du cathéter avant prélèvement. 0,1 ml de sang hépariné suffit à l'analyse, il doit être tenu à l'abri de l'air et étudié immédiatement à 37 °C. L'analyse doit être réalisée dans un endroit le plus proche possible des services de réanimation, voire à l'intérieur même de ces services.

Quatre types d'anomalies peuvent être observées en fonction de la nature initiale du désordre : acidose respiratoire ou métabolique, alcalose respiratoire ou métabolique. Parfois ces désordres seront intriqués du fait de plusieurs causes présentes en même temps. Ces perturbations seront dites compensées si le pH est normal du fait de la mise en jeu des systèmes de régulation (élimination de l'excès de CO<sub>2</sub> par les poumons en cas d'acidose métabolique ou réabsorption de bicarbonates par le rein en cas d'acidose respiratoire).

**Tableau I : Principaux mécanismes et étiologies des acidoses**

Excès d'apport ou de production d'ions H <sup>+</sup>	Anoxie tissulaire : Collapsus, déshydratation, infection grave, insuffisance respiratoire aiguë ou chronique (lié à l'hypoxie), cardiopathie cyanogène, hypothermie Diabète sucré Intoxications : Aspirine, éthylène-glycol, alcool, Négram®, Rimifon®, méthémoglobinémie Maladies héréditaires du métabolisme
Défaut d'excrétion des ions H <sup>+</sup> ou d'élimination du CO <sub>2</sub>	Insuffisance rénale aiguë ou chronique Acidose tubulaire rénale distale primitive (syndrome d'Albright) ou secondaire (uropathie) Acidose respiratoire par insuffisance respiratoire aiguë ou chronique
Fuite de bicarbonates	Perte digestive : Diarrhée, troisième secteur intestinal Perte urinaire : acidose tubulaire rénale proximale primitive ou secondaire

L'acidose métabolique est due à un excès d'ions acides dans l'organisme. Elle peut être la conséquence d'un excès de production d'ions acides, d'un déficit d'élimination ou d'une fuite en bicarbonates.

En réanimation, l'étiologie est souvent multifactorielle, l'acidose étant due souvent à une défaillance respiratoire et hémodynamique ; une atteinte rénale associée peut venir compliquer l'acidose et imposer le recours à une épuration extra rénale.

Les alcaloses respiratoires sont liées à une hyperventilation soit du fait d'une ventilation mécanique excessive, soit du fait d'une pneumopathie hypoxémiante avec hyperventilation réactionnelle. Elle peut également survenir dans certaines atteintes neurologiques (encéphalite, atteintes du tronc cérébral), en cas d'encéphalopathie hépatique avec hyperammoniémie ou dans certaines maladies héréditaires du métabolisme en particulier dans les déficits concernant le cycle de l'urée.

Habituellement, les alcaloses sont d'origine métabolique et sont souvent la conséquence d'une perte de chlore (sténose du pylore, diarrhée chlorée, mucoviscidose) remplacé au niveau du rein par l'ion bicarbonate. La perte d'ions  $H^+$  par le rein est plus rare. Enfin, certaines intoxications par lactates ou par bicarbonates pourront donner ce tableau.

### ***b- L'acide lactique***

L'acide lactique constitue la molécule terminale de la glycolyse anaérobie (un glucose donne deux lactates). Une acidose lactique va donc survenir dans toutes les situations d'hypoxie ou de défaillance circulatoire responsable d'une hypoxie tissulaire. Ce paramètre est utilisé pour évaluer la gravité des défaillances multiviscérales en réanimation. Le prélèvement doit être idéalement réalisé par voie artérielle ou par voie veineuse sans garrot.

Les valeurs normales sont comprises entre 0,5 et 2,2 mmol/L si le prélèvement est veineux et entre 0,5 et 1,6 mmol/L s'il est artériel. Il faudra toujours l'interpréter en fonction de l'état hémodynamique et respiratoire de l'enfant. Chez l'adulte, l'acidose lactique se rencontre essentiellement au cours des complications du diabète lors des comas soit acidocétoques soit liés aux biguanides. Chez l'enfant, on la rencontre surtout en cas d'hypoxie ou de défaillance circulatoire, d'effort musculaire prolongé (état de mal convulsif), lors des sepsis graves, au cours de certaines intoxications (alcool, cyanures, fumées d'incendies) ou en cas de métabolisme insuffisant de l'acide lactique par insuffisance hépatique ou lors de certaines maladies héréditaires du métabolisme qui sont étudiées par ailleurs dans cet ouvrage.

Il est fondamental, en réanimation pédiatrique de pouvoir prélever rapidement ce que nous appelons un bilan énergétique. Celui-ci comprend l'acide lactique, l'acide pyruvique, les acides aminés, les corps cétoniques, les acides gras libres et la glycémie. L'ensemble de ces paramètres pourra seul permettre de comprendre les anomalies du métabolisme énergétique qui ne seront valablement interprétés qu'en situation de décompensation aiguë à l'admission en réanimation. Si les résultats sont semi urgents, le prélèvement doit être

	Acide lactique
Tube	Fluorure oxalate
Méthode	Enzymatique LD
Volume M	5 ml, 200 $\mu$ L
Volume $\mu$ E	0,5 ml, 200 $\mu$ L
Volume $\mu$ P	0,5 ml, 200 $\mu$ L
Urgence	+++

M : Macrométhode  
 $\mu$  E : Microméthode enfant  
 $\mu$  P : Microméthode prématuré  
LD : Méthode enzymatique : lactate déshydrogénase  
\* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

réalisé en urgence sous peine de voir les stigmates biologiques de ces maladies gravement perturbés par le traitement instauré. Le prélèvement doit être fait à l'admission (1,5 ml sur perchlorate et 1 ml sur héparine), envoyé dans la glace, puis centrifugé et stocké à  $- 0^{\circ}$  jusqu'à analyse.

### ■ III. LES PROTÉINES TOTALES

#### a- Les protéines totales plasmatiques

Le plasma sanguin est une solution concentrée de protéines. À elle seule, l'albumine (PM : 67 000) représente 60 % du total. Les protéines plasmatiques remplissent des fonctions très diverses : maintien de la pression oncotique qui s'oppose à la fuite de liquide vers le secteur interstitiel, transport de molécules variées (lipides, oligoéléments, hormones, vitamines, bilirubine...), rôle dans la coagulation, dans la fonction immune, activité enzymatique....

La concentration des protéines totales est inférieure chez l'enfant par rapport à l'adulte et varie dans des limites assez larges.

Les variations de cette concentration peuvent être rapides en fonction du degré d'hydratation extracellulaire qui jouera immédiatement sur la protidémie et sur l'hématocrite. C'est donc un marqueur fondamental de l'état d'hémodilution ou d'hémoconcentration.

Les hyperprotéïnémies sont le plus souvent reliées à une déshydratation extracellulaire. En dehors de ce contexte clinique, il faudra réaliser une électrophorèse des protéines afin de mettre en évidence une éventuelle anomalie de répartition des différentes sous classes de protéines sériques. Les hypoprotidémies sont fréquemment observées en réanimation pédiatrique. Elles se traduiront cliniquement par des œdèmes, conséquence de la baisse de la pression oncotique avec fuite du liquide vasculaire vers le secteur interstitiel. Un excès d'apport hydrique pourra faire chuter rapidement la concentration des protéines en particulier chez les petits enfants (prématurés). Les états septiques graves avec fuite capillaire sont toujours accompagnés d'une fuite de protéines vers le milieu interstitiel. Des pertes protéiques majeures peuvent être induites par des pathologies comme les brûlures, les pertes rénales (syndrome néphrotique), les pertes digestives (entéropathie exsudative) voire les pertes liées à certains traitements (dialyse péritonéale prolongée par exemple).

Protéines totales (× 8)	
Tube	Hépariné
Méthode	Biuret
Volume* M	5 ml, 5 $\mu$ L
Volume* $\mu$ E	0,5 ml, 5 $\mu$ L
Volume* $\mu$ P	0,4 ml, 10 $\mu$ L
Urgence	++

M : Macrométhode  
 $\mu$  E : Microméthode enfant  
 $\mu$  P : Microméthode prématuré  
 × 8 : ensemble de 8 paramètres dosés ensemble : Na, K, Cl, Glc, Urée, Créat, Ca, Prot  
 \* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

Protéines totales	g/L
Prématuré	43 - 76
Nouveau-né	46 - 74
Enfant	62 - 80
Adulte	60 - 78

### ***b- Les protéines du liquide céphalo-rachidien***

Les protéines sont également dosées dans le liquide céphalo-rachidien lors de syndromes neurologiques aigus ou chroniques. La concentration des protéines dans le LCR varie avec l'âge et doit donc être interprété avec précaution. Une protéinorachie de 1 g/L n'est pas nécessairement anormale chez le nouveau-né.

La protéinorachie, augmentée en cas de méningite bactérienne, pourra être particulièrement utile dans le diagnostic des méningites à liquide clair (listériose, tuberculose...). Elle est le plus souvent normale dans les méningites virales. Dans les encéphalites virales (fièvre, coma convulsions), elle peut être augmentée ; il faut alors systématiquement demander le dosage de l'interféron dans le LCR afin de mettre en évidence la nature invasive de cette encéphalite (Herpès++). Enfin une hyperprotéinorachie sans augmentation des cellules du LCR (dissociation albumino-cytologique) devra faire évoquer une polyradiculonévrite devant tout syndrome paralytique aigu (syndrome de Guillain et Barré ou de Miller Fisher).

Protéines LCR	g/L
0 - 6 jours	0,8 ± 0,2
7 - 13 jours	0,7 ± 0,24
14 - 27 jours	0,54 ± 0,18
28 - 41 jours	0,46 ± 0,15
1 - 2 mois	0,45 ± 0,14
2 - 4 mois	0,35 ± 0,12
5 - 8 mois	0,21 ± 0,03
9 mois - 7 ans	0,17 ± 0,03
8 - 13 ans	0,21 ± 0,04

## ■ IV. LES PROTÉINES NUTRITIONNELLES

---

### ***a- L'albumine***

L'albumine est le constituant protéique essentiel des protéines plasmatiques (environ 60 %). Elle est donc responsable de la majorité de l'effet oncotique des protéines plasmatiques. La prescription d'albumine en réanimation a été considérablement réduite étant donné les risques théoriques liés à son origine plasmatique humaine, et à la présence de solutés de remplissage colloïdes ou cristalloïdes de remplacement qui ne présentent pas ces risques. Néanmoins, elle peut être effondrée en cas de défaut de synthèse (réanimation prolongée, cachexie, malnutrition protéino-énergétique, malabsorption, maldigestion), par insuffisance hépato-cellulaire ou par compétition s'il y a une synthèse excessive d'une globuline pathologique, ce qui est rare chez l'enfant, ou en cas de fuite de l'albumine hors du plasma par voie rénale, cutanée ou digestive.

### ***b- La préalbumine et la transferrine***

Ces deux protéines de demi-vies courtes permettent d'évaluer l'état nutritionnel des enfants hospitalisés en réanimation. L'importance d'évaluer l'état nutritionnel chez des enfants qui sont parfois hospitalisés très longtemps est fondamentale. Ces patients doivent assumer leur croissance en même temps que la guérison de la maladie causale. Ces protéines, dosées par immunonéphélométrie laser, permettent d'évaluer l'état nutritionnel de la masse maigre de ces enfants. Le simple comptage de l'apport calorique et les mesures anthropométriques (poids, taille) sont insuffisants pour analyser la préservation de la masse maigre chez ces enfants dénutris en hospitalisation prolongée.

## ■ V. LES PROTÉINES DE L'INFLAMMATION

### *a- La C-réactive protéine*

Lors d'une infection, les cytokines libérées par les cellules impliquées dans la réaction inflammatoire agissent au niveau du foie pour accroître la synthèse de C-réactive-protéine (CRP) qui fait partie des protéines de la phase inflammatoire aiguë. Cette protéine, de demi-vie courte (2 à 6 jours), est le principal marqueur de l'inflammation utilisée en réanimation pédiatrique.

Synthétisée par le foie, la CRP un marqueur important de la réaction inflammatoire, en particulier, des infections bactériennes (à germes figurés), des infections mycotiques et plus rarement de certaines infections virales (virus adéno-pharyngo-conjonctival). C'est un marqueur très utile en pédiatrie et en particulier en néonatalogie ou l'infection grave peut être initialement pauci-symptomatique et ou la précocité du traitement est souvent le gage du succès. Néanmoins, il faut noter que l'augmentation de la CRP, lors d'une infection, est retardée de 24 heures par rapport à d'autres marqueurs comme la procalcitonine (cf. ci-dessous). Ce marqueur est utilisé de façon diagnostique dans toutes les infections, il faut noter l'intérêt de son dosage dans le LCR dans le cadre de la suspicion d'une méningite décapitée par une antibiothérapie préalable qui empêchera le diagnostic microbiologique.

Enfin la CRP sera utilisée pour juger de l'évolution d'un sepsis quel qu'il soit, la réascension des concentrations devant faire suspecter une inefficacité (secondaire) du traitement ou la survenue d'une infection nosocomiale, sur prothèse par exemple.

### *b- Les autres marqueurs inflammatoires : VS, Procalcitonine.*

Ils sont moins utilisés que la CRP. La VS est encore moins spécifique que la CRP pour signifier une infection bactérienne. La procalcitonine (PCT) serait d'un intérêt plus grand en cas d'infection bactérienne. Cette protéine de demi-vie courte (24 heures) est le peptide précurseur de la calcitonine et est normalement produite par les cellules C de la thyroïde. La concentration normale est très basse :  $< 0,1 \text{ ng/mL}$ . Lors des infections sévères, la PCT est produite par des tissus extra thyroïdiens comme le foie ou le système mononucléé sous l'effet des endotoxines et des cytokines liées à l'inflammation. Cela entraîne une augmentation importante de la synthèse de la PCT. Cette protéine est dosée par immunoluminescence. Lors des infections banales, la PCT est  $< 0,5 \text{ ng/ml}$ , elle peut s'accroître jusqu'à 2 lors des inflammations d'origine non bactérienne, par contre elle est supérieure à 10 voire à 100 lors des infections bactériennes sévères. Dans ce cas, l'augmentation de la PTC précède celle de la CRP de plus de 20 heures, ce qui en fait un marqueur très précoce d'infection grave. Sa demi-vie courte permet de plus d'évaluer l'évolution et l'efficacité du traitement jour après jour. La relative spécificité infectieuse (bactérienne ou fongique) de ce marqueur permet de différencier différents type d'inflammation chez des

CRP	
Tube	Sec ou hépariné
Méthode	N ou IT
Volume* M	5 ml, 200 $\mu\text{L}$
Volume* $\mu\text{E}$	0,5 ml, 200 $\mu\text{L}$
Volume* $\mu\text{P}$	0,4 ml, 3 $\mu\text{L}$
Urgence	+++

M : Macrométhode

$\mu\text{E}$  : Microméthode enfant

$\mu\text{P}$  : Microméthode prématuré

N : Néphélométrie (enfants et adultes)

IT : Immunoturbidimétrie (prématurés)

\* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

patients présentant des affections complexes (infection ou rejet de greffe, inflammation ou surinfection d'une pancréatite...).

## ■ VI. LA GLYCÉMIE

Le glucose est un substrat indispensable à toutes les cellules de l'organisme. Il représente le substrat énergétique majeur du métabolisme intermédiaire. La glycémie est finement régulée afin de pourvoir aux besoins des tissus. Cette glycémie se maintient à un niveau constant grâce aux apports exogènes (sucres de l'alimentation), puis, à la mobilisation des réserves de l'organisme (sous l'action de systèmes hormonaux) et enfin si le jeûne se poursuit grâce à la néoglucogenèse réalisée à partir de substrats endogènes.

La glycémie normale est inférieure chez l'enfant et en particulier chez le nouveau-né à celle de l'adulte.

Par contre, il faut insister sur le fait que le cerveau du nouveau-né est beaucoup plus dépendant des apports en sucres que le cerveau d'un patient adulte. Ainsi, en période néonatale, le cerveau consomme 7-8 g/kg/ jour de sucre, alors que le cerveau d'un adulte n'en consomme que 2 g/kg/ jour.

En réanimation pédiatrique, la mesure de la glycémie est fondamentale et réalisée de façon quotidienne. Les faibles réserves en sucres des prématurés et des nouveau-nés les rendent particulièrement sensibles au risque d'hypoglycémie. Ce risque s'accroît d'autant plus qu'il y a une affection intercurrente qui entrave l'alimentation normale et rend l'enfant dépendant de ses seules capacités à maintenir sa glycémie. La surveillance se fait par le dosage du glucose vrai (technique de la glucose oxydase) et surtout par une méthode semi-quantitative par bandelette colorimétrique (Dextrostix®) au lit du malade.

L'hypoglycémie se définit comme une glycémie inférieure à 1,8 mmol/L chez le nouveau-né et inférieure à 2,2 mmol/L chez l'enfant plus grand. Les manifestations cliniques peuvent être graves, allant d'une simple irritabilité à un état de mal convulsif avec coma voire décès.

Chez le nouveau-né, la symptomatologie est souvent pauvre voire absente. L'hypoglycémie est souvent accompagnée de signes fonctionnels d'autant plus évidents que l'enfant est plus grand : adynamie, pâleur, sueurs, bradycardie, sensation de faim, malaise... La survenue de ces signes prémonitoires impose une mesure urgente de la glycémie afin d'éviter les épisodes de souffrance neurologique dont la répétition va gravement altérer le développement psychomoteur de ces enfants.

Glycémie (× 8)	
Tube	Hépariné
Méthode	Gluc ox ou Hex
Volume* M	5 ml, 3 µL
Volume* µ E	0,5 ml, 3 µL
Volume* µ P	0,3 ml, 3 µL
Urgence	++

M : Macrométhode

µ E : Microméthode enfant

µ P : Microméthode prématuré

× 8 : ensemble de 8 paramètres dosés ensemble : Na, K, Cl, Glc, Urée, Créat, Ca, Prot

Gluc Ox : Glucose oxydase, Hex : Hexokinase / Glucose 6 phosphate déshydrogénase.

\* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

Glycémie (mmol/L)	Valeurs normales
Cordon	2,5 - 5,3
Prématuré	1,1 - 3,3
Nouveau-né J0	1,7 - 3,3
Nouveau-né J1	2,2 - 3,3
Nouveau né > J1	2,8 - 5,0
Enfant	3,3 - 5,5
Adulte	3,3 - 5,8

Les nouveau-nés à risque d'hypoglycémie sont les prématurés, les hypotrophes, les post-matures, les nouveau-nés de mères diabétiques (connues ou non), les macrosomies fœtales, les souffrances fœtales aiguës, les détresses respiratoires et les infections.

Lorsque les hypoglycémies persistent au-delà de la période néonatale immédiate, et en dehors de tout contexte précédemment cité, il faut rapidement évoquer les causes endocriniennes dont la plus fréquente est l'hyperinsulinisme. Le bilan endocrinien devra également vérifier l'absence d'insuffisance somatotrope ou corticotrope. Enfin lorsqu'il n'y a pas de causes endocriniennes retrouvées, il faudra étudier l'ensemble du métabolisme énergétique de ces enfants, de nombreuses pathologies métaboliques héréditaires pouvant comprendre dans leur présentation une hypoglycémie. Ces étiologies sont traitées par ailleurs dans cet ouvrage.

L'hyperglycémie est relativement fréquente en réanimation, du fait de la situation de stress dans laquelle se trouvent les enfants. La mise en jeu du système adrénargique entraîne une glyco-génolyse qui va faire accroître la glycémie. Les situations de catabolisme majeur rencontrées en réanimation peuvent s'associer à un syndrome de résistance à l'insuline qui entraîne une hyperglycémie malgré des apports de glucose adaptés et sans que le patient soit pour autant diabétique. Néanmoins, la cause principale des hyperglycémies graves de l'enfant traitées en réanimation reste le diabète insulino-dépendant dans le cadre des décompensations acidocétosiques graves.

## ■ VII. LA FONCTION RÉNALE

L'insuffisance rénale est un tableau clinico-biologique liée à une altération (momentanée) de la fonction rénale d'épuration. Elle se caractérise par un ensemble de troubles cliniques et biologiques où dominent la surcharge hydrosodée, l'accumulation des déchets azotés, l'hyperkaliémie et l'acidose. Cet état est la conséquence d'une baisse de la diurèse avec anurie ou oligoanurie. Les marqueurs spécifiques de l'insuffisance rénale sont l'urée et la créatinine dont l'augmentation signifie l'altération des clairances rénales quelle qu'en soit l'origine.

### a- L'urée

L'urée est le plus ancien des paramètres biochimiques identifiés. C'est une molécule essentielle du métabolisme protidique qui représente la forme majeure de l'excrétion urinaire de l'azote issue de la dégradation des protéines. C'est un marqueur du métabolisme protéique, mais surtout de la fonction rénale car il s'élimine à 90 % par voie urinaire et sa concentration plasmatique s'élèvera dès qu'il y aura altération de la fonction rénale.

Urée (× 8)	
Tube	Hépariné
Méthode	Enz U/GD
Volume* M	5 ml, 3 µL
Volume* µ E	0,5 ml, 3 µL
Volume* µ P	0,4 ml, 3 µL
Urgence	++

M : Macrométhode

µ E : Microméthode enfant

µ P : Microméthode prématuré

× 8 : ensemble de 8 paramètres dosés ensemble : Na, K, Cl, Glc, Urée, Créat, Ca, Prot

Enz U/GD : Méthode enzymatique par uréase / glutamate déshydrogénase.

\* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

L'urée sanguine varie avec l'âge. À la naissance, elle peut être en rapport avec les concentrations maternelles. Elle baisse par la suite et atteint les valeurs adultes dès l'enfance (2,5 – 6,4 mmol/L). L'urée urinaire est un marqueur fondamental dans l'évaluation d'une insuffisance rénale. Le rapport urée urinaire/ urée plasmatique permet d'apprécier rapidement la capacité d'épuration du rein et de faire la différence entre une insuffisance rénale prérénale ou fonctionnelle (Urée U/P : > 10) et une insuffisance rénale organique (Urée U/P < 10). En cas d'insuffisance rénale fonctionnelle, le tableau urinaire montrera également une inversion du rapport Na/K (<1) et une osmolalité urinaire élevée (> 600 mosm/L).

### **b- La créatinine**

La créatinine plasmatique et urinaire est le reflet fidèle de la masse musculaire de l'organisme. Ces deux paramètres sont remarquablement fixes pour un sujet donné. De ce fait la clairance de la créatinine prend une valeur sémiologique unique pour évaluer la fonction rénale ; elle n'est liée ni à la diurèse, ni à l'apport protéique exogène comme c'est le cas pour l'urée.

L'élimination de la créatinine est exclusivement urinaire. Elle est filtrée au niveau du néphron et n'est ensuite non réabsorbée, et faiblement sécrétée. Sa clairance est assez étroitement fonction de la filtration glomérulaire. En situation pathologique, ces données peuvent varier sensiblement, mais ce paramètre reste essentiel pour évaluer la fonction rénale. La mesure de la clairance nécessite, bien sûr, le recueil précis de la diurèse ce qui rend ce dosage semi-urgent. Par ailleurs la qualité du recueil (parfois difficile chez l'enfant et en particulier la petite fille) impose d'interpréter les résultats avec précaution.

Les concentrations de la créatinine sont celles de la mère à la naissance puis vont baisser dans les premiers jours de vie pour remonter progressivement tout au long de l'enfance et atteindre des valeurs adultes à la fin de l'adolescence lorsque la masse musculaire définitive est constituée.

La classification des insuffisances rénales chez l'enfant répond au même principe que chez l'adulte avec une origine prérénale ou fonctionnelle, rénale ou organique et postrénale ou obstructive. En réanimation pédiatrique, la cause de loin la plus rencontrée est l'insuffisance rénale fonctionnelle par déshydratation lors d'une gastro-entérite par exemple. L'urée peut être très élevée et doit se normaliser très rapidement avec le rétablissement d'une volémie efficace. Si cette normalisation n'apparaît pas dans les 12 heures suivant la réhydratation, il faudra craindre une insuffisance rénale organique secondaire (thrombose des veines rénales, nécrose corticale bilatérale) ou l'existence d'une autre pathologie associée. En dehors du contexte de déshydratation, la cause essen-

Créatinine (× 8)	
Tube	Hépariné
Méthode	Jaffé
Volume* M	5 ml, 10 µL
Volume* µ E	0,5 ml, 10 µL
Volume* µ P	0,4 ml, 15 µL
Urgence	+++

M : Macrométhode  
 µ E : Microméthode enfant  
 µ P : Microméthode prématuré  
 × 8 : ensemble de 8 paramètres dosés ensemble : Na, K, Cl, Glc, Urée, Créat, Ca, Prot  
 \* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

Créatinine (mmol/L)	Valeurs normales
Cordon	53 - 106
Nouveau-né	27 - 88
Nourrisson	17 - 35
Enfant	27 - 62
Adolescent	44 - 88
Adulte Homme	53 - 106
Adulte Femme	44 - 97



tielle des insuffisances rénales aiguës graves de l'enfant reste le syndrome urémo-hémolytique qui associe une insuffisance rénale souvent anurique par microangiopathie thrombotique et une hémolyse intravasculaire avec thrombopénie. Le diagnostic sera posé sur l'histoire clinique et la présence de schizocytes qui signent la réalité de l'anémie hémolytique associée à l'insuffisance rénale. Hormis ces cas « classiques » chez l'enfant, nous voyons de plus en plus d'enfants bénéficiant de traitements lourds (chimiothérapie, immunosuppresseurs, antibiothérapie...) qui présentent, en plus du problème ayant justifié leur admission en réanimation, une insuffisance rénale souvent toxique qui complique parfois grandement leur prise en charge. C'est pourquoi, l'évaluation de la fonction rénale doit rester systématique dès l'admission en réanimation, sa surveillance régulière, en particulier chez les enfants aux antécédents médicaux chargés étant tout aussi fondamentale.

Enfin, l'altération de la fonction rénale doit impérativement faire surveiller certains paramètres qui risquent d'engager le pronostic vital en particulier en cas d'anurie : hyperkaliémie, hyponatrémie, augmentation majeure de l'urée (et donc de l'osmolalité). La constatation de l'un de ces paramètres chez le patient anurique entraînera l'indication d'une épuration extra rénale en urgence.

### *c- L'acide urique*

L'acide urique est le produit ultime de la dégradation des bases puriques. Il est très peu soluble dans l'eau et son élimination est exclusivement urinaire ; la précipitation des urates contribue à constituer le sédiment urinaire. Dans le plasma, les valeurs normales sont de 119 à 339  $\mu\text{mol/L}$  chez le nouveau-né et montent jusqu'à 266 à 450  $\mu\text{mol/L}$  chez l'adulte. En réanimation pédiatrique, ce paramètre est surtout important en cas d'insuffisance rénale aiguë où l'hyperuricémie se dévoile avant même l'élévation de l'urée sanguine. Il faut noter l'importance de la surveillance de ce paramètre chez les patients souffrant de maladies hématologiques ou oncologiques bénéficiant d'une chimiothérapie antimétabolique et qui sont à risque de développer une hyperuricémie lors de la lyse tumorale. Cette hyperuricémie pourrait alors à son tour participer à la genèse de l'insuffisance rénale.

## ■ VIII. LE BILAN PHOSPHOCALCIQUE

---

### *a-Le calcium*

L'ion  $\text{Ca}^{++}$  est le plus abondant de l'organisme. En étroite relation avec les ions phosphates, il participe en plus de la minéralisation du tissu osseux à la régulation de la perméabilité membranaire, à l'activation ou à l'inhibition de nombreuses enzymes, à l'action de plusieurs hormones, à l'excitabilité neuromusculaire et à la coagulation sanguine.

La méthode de dosage habituelle est colorimétrique. Des erreurs ont pu avoir lieu en particulier en cas de prélèvements hémolysés donnant des résultats faussement élevés.

La calcémie devra toujours être interprétée en fonction de la protidémie. Pour se libérer de ce paramètre, il faudra doser le calcium ionisé. Les valeurs de la calcémie varient et augmentent progressivement avec l'âge. Hormis la période néonatale immédiate, le calcium ionisé plasmatique est stable avec l'âge.

Dans le plasma, la concentration de calcium reste remarquablement fixe. Par contre le calcium urinaire est très étroitement dépendant des apports exogènes et des mécanismes de régulation en activité (baisse de la calciurie en situation de carence par l'action PTH, augmentation de la calciurie en situation d'hypercalcémie).

On parle d'hypocalcémie en dessous de 2 mmol/L, elle entraîne souvent une hyperexcitabilité neuromusculaire et peut s'exprimer par des convulsions qui sont réputées bénignes. En réanimation pédiatrique, les problèmes posés par le calcium concernent le plus souvent le nouveau-né. Les hypocalcémies néonatales sont le plus souvent dues à un retard de l'adaptation du nouveau-né à la mise en route du système parathormone (hypoparathyroïdie transitoire du nouveau-né). Une hypocalcémie néonatale peut également survenir en cas d'infection grave ou en cas de souffrance fœtale. Chez l'enfant plus grand, l'hypocalcémie était autrefois le plus souvent liée au rachitisme carenciel par déficit en vitamine D dont certaines complications comme la myocardiopathie hypocalcémique ou le laryngospasme pouvaient être graves. En dehors des causes nutritionnelles, les hypocalcémies sont souvent chez l'enfant la conséquence d'anomalies du métabolisme de la parathormone (hypoparathyroïdie dans le cadre d'un syndrome de Di George par exemple).

Les hypercalcémies sont plus rares chez l'enfant que chez l'adulte. Elles se définissent par une calcémie supérieure à 2,8 mmol/L. Cliniquement, elles s'expriment par des troubles digestifs (anorexie, vomissements, douleurs abdominales), des troubles rénaux (polyurie, polydipsie, lithiases, néphrocalcinose), des troubles neuropsychiques (asthénie, pseudoparalysies, agitation) ou des troubles cardiaques et hémodynamiques (hypertension, tachycardie, extrasystoles, collapsus voire arrêt cardiaque). Les étiologies concernent les intoxications à la vitamine D qui sont rares aujourd'hui, les syndromes d'immobilisation prolongée, les anomalies osseuses congénitales ou acquises et les endocrinopathies. Dans certains cas, le mécanisme de l'hypercalcémie est mal connue (hypercalcémie survenant lors des cystostéatonécroses du nouveau-né par exemple).

### ***b- Les phosphates***

Le dosage des phosphates plasmatiques concerne les phosphates inorganiques ou minéraux (anions phosphates bi et monométalliques  $\text{PO}_4\text{H}^-$  et  $\text{PO}_4\text{H}_2$ ) exprimés en mmoles de phosphate par litre de sérum de plasma ou d'urines.

Phosphates	
Tube	Sec ou Hépariné
Méthode	C réactif au Ph Mb
Volume* M	5 ml, 10 $\mu\text{L}$
Volume* $\mu\text{E}$	0,5 ml, 10 $\mu\text{L}$
Volume* $\mu\text{P}$	0,4 ml, 15 $\mu\text{L}$
Urgence	+

M : Macrométhode  
 $\mu\text{E}$  : Microméthode enfant  
 $\mu\text{P}$  : Microméthode prématuré  
 C réactif au Ph Mb : colorimétrie, réactif au phosphomolybdate  
 \* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse

Calcium (X8)	
Tube	Hépariné
Méthode	Complexométrie**
Volume* M	5 ml, 10 $\mu\text{L}$
Volume* $\mu\text{E}$	0,5 ml, 10 $\mu\text{L}$
Volume* $\mu\text{P}$	0,3 ml, 5 $\mu\text{L}$
Urgence	+++

M : Macrométhode  
 $\mu\text{E}$  : Microméthode enfant  
 $\mu\text{P}$  : Microméthode prématuré  
 X 8 : ensemble de 8 paramètres dosés ensemble : Na, K Cl, Glc, Urée, Créat, Ca, Prot  
 \*\* : méthode à l'ortho-crésol-phthaléine complexion  
 \* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

Calcémie (mmol/L)	Total	Ionisé
Cordon	2,25 – 2,88	1,37 $\pm$ 0,7
Nouveau-né J0	2,3 – 2,65	1,07 $\pm$ 0,27
Nouveau-né J1	1,75 – 3,0	1,00 – 1,17
1 - 4 semaines	2,25 – 2,73	1,12 – 1,23
Nourrisson	2,2 – 2,70	1,12 – 1,23
Enfant	2,1 – 2,55	1,12 – 1,23
Adolescent	2,1 – 2,55	1,12 – 1,23

La phosphatémie ne doit jamais être interprétée seule et doit toujours être demandée avec le calcium total ou ionisé. Le produit calcium x phosphate doit rester stable pour des raisons de solubilité, sinon il y a un risque de précipitation de sels de calcium intravasculaire.

Les phosphates plasmatiques sont normalement élevés en période néonatale puis baissent progressivement. Son métabolisme est sous la dépendance de la parathormone qui entraîne une fuite urinaire de phosphates parallèlement à la réabsorption de calcium en cas de déficit calcique par exemple.

Phosphates (mmol/L)	Valeurs normales
Cordon	1,2 - 2,6
Prématuré	1,7 - 3,5
Nouveau-né	1,4 - 3,0
Nourrisson	1,45 - 2,1
Adolescent	44 - 88
Enfant	0,97 - 1,45
Adolescent	0,97 - 1,45

En réanimation pédiatrique, le dosage des phosphates se conçoit surtout avec celui du calcium. On retrouve alors les anomalies entraînant des perturbations du bilan calcique (voir ci-dessus). Les signes cliniques de l'hypophosphatémie sont rares, ils peuvent se traduire par une faiblesse musculaire voire une insuffisance respiratoire par parésie des muscles respiratoires. On voit également des hypophosphatémies lors des états de dénutrition avancés (anorexie mentale). Le risque clinique survient surtout en cas de rénutrition glucidique sans recharge phosphorée, ce qui risque d'aggraver brutalement l'hypophosphatémie par transfert des phosphates vers le secteur intracellulaire.

## ■ IX. LES ENZYMES PLASMATIQUES

En biochimie clinique, les enzymes plasmatiques sont d'excellents indicateurs de lésions tissulaires. L'intensité de l'élévation des enzymes plasmatiques est liée à l'importance de la lésion d'un tissu donné. Ces enzymes ont une relative spécificité tissulaire bien que certaines augmentations plasmatiques des ASAT et ALAT puissent être en rapport avec une lésion musculaire que l'on pourra méconnaître si la CPK n'a pas été dosée au même moment. Chez le sujet sain, le plasma est remarquablement pauvre en enzymes : on peut en déceler un très grand nombre mais à des taux d'activité très faibles. Toute lésion de la membrane cellulaire entraînera une irruption dans le plasma d'enzymes qui pourront être détectées en urgence et signeront la preuve de la lésion tissulaire. En réanimation pédiatrique, nous utilisons principalement les ASAT et ALAT en tant que marqueur de souffrance hépatique, la CPK comme marqueur d'atteinte musculaire et l'amylase pour l'atteinte pancréatique. Les phosphatases alcalines, la gamma GT et la LDH sont rarement dosées en urgence et font plutôt partie des bilans étiologiques demandés dans certains cadres particuliers.

### *a- Les transaminases : Aspartique et Alanine aminotransférases (ASAT et ALAT)*

Les transaminases comptent parmi les plus anciens paramètres enzymatiques utilisés en biologie clinique courante. Ils font partie de la liste des paramètres urgents que chaque laboratoire doit pouvoir fournir 24 h/ 24 h et dans l'heure qui suit la demande.

Ces deux enzymes sont responsables de la transamination du glutamate (+ oxaloacetate ou pyruvate) en aspartate ou alanine +  $\alpha$ -cétoglutarate. Ces enzymes sont essentiellement

d'origine hépatique, mais peuvent également être d'origine musculaire. Les ASAT sont plus spécifiquement hépatiques que les ALAT. Leurs concentrations sont constantes avec l'âge et doivent être ASAT : < à 25 UI et ALAT : < à 40 UI.

L'intérêt majeur de ces paramètres est l'évaluation de la cytolysse hépatique, quelle qu'en soit son origine. Les transaminases seront élevées en cas d'hépatite virale, toxique ou médicamenteuse, mais aussi dans de nombreuses situations où le foie est atteint (hypoxie, collapsus, choc septique, coma, insuffisance rénale). Par ailleurs, devant tout syndrome neurologique aigu (surtout sans fièvre) il faut rechercher, une atteinte hépatique qui pourrait témoigner de la survenue d'un syndrome de Reye dont on connaît la gravité. Dans un contexte moins urgent, l'analyse des transaminases permet de suivre l'évolution de la récupération tissulaire et, par la même, de juger de l'efficacité d'une thérapeutique. Enfin, une élévation modérée des transaminases devra toujours faire rechercher une rhabdomyolyse ou une atteinte myocardique associée. Dans ce contexte, leur élévation est retardée par rapport à celle de la créatine kinase.

### ***b- La gamma-glutamyl-transpeptidase : $\gamma$ -GT***

La  $\gamma$ -GT est une enzyme largement répartie dans plusieurs organes : les reins, le pancréas, le foie et les voies biliaires. L'enzyme circulant dans le plasma serait exclusivement d'origine hépato-biliaire ce qui en fait un marqueur très spécifique de certaines atteintes hépatiques.

Cette enzyme hydrolyse spécifiquement la liaison amide où se trouve impliqué le radical carboxyle en position  $\gamma$  de l'acide glutamique qu'elle transporte sur un accepteur. Le dosage se fait par mesure de l'activité enzymatique par colorimétrie. Cette enzyme est un marqueur extrêmement sensible de l'inflammation des voies biliaires.

En réanimation pédiatrique, ce marqueur est surtout utile en cas de cholestase néonatale. En effet, l'ictère est un problème quotidien en néonatalogie, la plupart des étiologies sont dues à la prématurité ou à des causes hématologiques ou immunologiques. Ces causes ne comportent pas d'atteinte des voies biliaires, par contre, certaines étiologies d'ictères à bilirubine conjuguée sont consécutives à une anomalie des voies biliaires, et le dosage de la  $\gamma$ -GT permettra avec d'autres éléments sémiologiques d'évoquer le diagnostic et de proposer un traitement chirurgical qui peut être urgent. Ce paramètre est de peu d'utilité dans la surveillance et le diagnostic des insuffisances hépatiques aiguës, par contre dans certains contextes particuliers, comme les patients immu-

ASAT ou ALAT	
Tube	Sec ou hépariné
Méthode	Act enzymatique
Volume* M	5 ml, 15 $\mu$ L
Volume* $\mu$ E	0,5 ml, 15 $\mu$ L
Volume* $\mu$ P	0,3 ml, 20 $\mu$ L
Urgence	+++

M : Macrométhode  
 $\mu$  E : Microméthode enfant  
 $\mu$  P : Microméthode prématuré  
 Act enzymatique : méthode par mesure de l'activité enzymatique (norme IFCC) ; ASAT : malate dés-hydrogénase ; ALAT : Lactate dés-hydrogénase.  
 \* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

$\gamma$ -GT	
Tube	Sec
Méthode	AE/C
Volume* M	5 ml, 10 $\mu$ L
Volume* $\mu$ E	0,5 ml, 10 $\mu$ L
Volume* $\mu$ P	0,4 ml, 32 $\mu$ L
Urgence	+

M : Macrométhode  
 $\mu$  E : Microméthode enfant  
 $\mu$  P : Microméthode prématuré  
 AE/C : Activité enzymatique par colorimétrie  
 \* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

nodéprimés, les patients bénéficiant d'une greffe de foie ou de moëlle osseuse, le dosage de ce paramètre est indispensable pour analyser l'évolution clinique et dépister certaines complications. Lors des atteintes hépatiques (hépatites quelle qu'en soit l'étiologie), la  $\gamma$ -GT évolue par poussées plus ou moins importantes témoignant de la cholestase associée à l'atteinte cytolytique. Enfin, la  $\gamma$ -GT est un marqueur d'alcoolisme chronique et elle pourra être utilisée chez l'adolescent en situation d'intoxication aiguë afin de dépister une éventuelle imprégnation alcoolique associée. En conclusion, ce paramètre fera partie du bilan hépatique en réanimation pédiatrique, son degré d'urgence est relatif et dépendra du contexte clinique.

### c- La phosphatase alcaline

La phosphatase alcaline fut la première enzyme plasmatique utilisée pour le diagnostic médical. Cette enzyme se répartit surtout dans le foie, les voies biliaires et l'os. Elle possède des isoenzymes qui ne sont pas étudiés habituellement en biologie clinique.

L'activité plasmatique de cette enzyme se fait par l'hydrolyse d'un substrat artificiel : le p.nitrophényl-phosphate ou autre. La vitesse d'apparition de la coloration suivie par photométrie est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline. Chez le nourrisson et chez l'adolescent ou la croissance osseuse est rapide, les valeurs sont plus élevées que chez l'adulte.

En réanimation pédiatrique, l'intérêt de ce dosage réside essentiellement dans l'atteinte des voies biliaires que nous avons envisagée ci-dessus avec la  $\gamma$ -GT, tout en sachant que la spécificité de ce dosage est moins spécifique que celui de la  $\gamma$ -GT à cause de l'origine également osseuse de la phosphatase alcaline lors des périodes de croissance rapide. Néanmoins toute souffrance cellulaire hépatique s'accompagnera d'une augmentation modérée de la phosphatase alcaline, une augmentation franche signant une altération des voies biliaires ou du métabolisme osseux. Le rachitisme, carenciel ou non, reste une étiologie à évoquer quand il y a une augmentation de la phosphatase alcaline (liée à l'activité des ostéoblastes) surtout si elle est associée à une hypocalcémie. Le dosage de la phosphatase alcaline permet alors d'orienter le diagnostic et de suivre l'évolution du métabolisme osseux sous traitement.

Phosphatase alcaline	
Tube	Sec ou hépariné
Méthode	AE/C
Volume M	5 ml, 7 $\mu$ L
Volume* $\mu$ E	0,5 ml, 7 $\mu$ L
Volume* $\mu$ P	0,4 ml, 7 $\mu$ L
Urgence	+

M : Macrométhode  
 $\mu$  E : Microméthode enfant  
 $\mu$  P : Microméthode prématuré  
 AE/C : Activité enzymatique par colorimétrie (technique PNPP/PNP)  
 \* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

### d- La lactico-déshydrogénase (LDH) et ses isoenzymes

La LDH catalyse la transformation de lactate en pyruvate avec l'aide du NAD comme cofacteur. C'est une enzyme essentielle du métabolisme énergétique. Elle est présente dans tous les tissus, surtout ceux qui ont de grands besoins énergétiques (le foie, le muscle squelettique, le myocarde et les globules rouges). L'intérêt des isoenzymes réside dans leur spécificité tissulaire. Il y a 5 isoenzymes différents formés de types de monomères (A : musculaire ou hépatique et B : cardiaque) assemblés en tétramères. La LDH 1 (B4) est d'origine cardiaque, la LDH 5 est d'origine hépatique ou musculaire.

Le dosage se fait en mesurant la transformation du NADH en NAD<sup>+</sup> par spectrophotométrie. La vitesse de transformation étant proportionnelle à l'activité de la LDH dans le plasma.

En pathologie adulte, ce paramètre est essentiellement utilisé comme marqueur de l'infarctus du myocarde (il n'est pas le plus sensible) et dans les atteintes hépatiques. Chez l'enfant, la LDH pourra être utilisée comme marqueur de souffrance hépatique ; une augmentation de son activité plasmatique témoigne comme les transaminases d'un syndrome cytolytique. En réanimation pédiatrique, les pathologies cardiaques sont différentes de celles qui sont rencontrées chez l'adulte (myocardite, syndrome de Kawasaki, anomalies de l'implantation des coronaires...). Dans ce cadre, la LDH est un marqueur intéressant de la souffrance myocardique, et ce d'autant plus que son augmentation persiste plus longtemps que les autres marqueurs : cela doit permettre d'évoquer le diagnostic a posteriori après un malaise grave par exemple. Enfin, l'utilisation des isoenzymes, est très utile pour différencier les différentes souffrances tissulaires lors des réanimations lourdes, une souffrance myocardique pouvant être associée à une souffrance hépatique par exemple.

LDH	
Tube	Sec
Méthode	AE/S
Volume* M	5 ml, 3 µL
Volume* µ E	0,5 ml, 3 µL
Volume* µ P	0,5 ml, 3 µL
Urgence	+

M : Macrométhode

µ E : Microméthode enfant

AE/C : Activité enzymatique par spectrophotométrie

\* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

### *e- La créatine phospho-kinase (CPK) et ses isoenzymes*

La créatine phospho-kinase est une enzyme essentiellement répartie dans le tissu musculaire (muscle squelettique et myocarde), on la retrouve également dans le cerveau mais en plus petite quantité. Trois isoenzymes ont pu être mises en évidence, elles sont formées de deux dimères (M pour le muscle et B pour le cerveau). La forme MM est exclusivement musculaire, la forme BB cérébrale et la forme MB est caractéristique du myocarde. Il est important de noter qu'il n'y a pas de CPK dans le foie, et que si une augmentation (surtout) modérée des transaminases hépatiques peut être le reflet d'une atteinte musculaire, une augmentation des CPK ne peut pas refléter une atteinte hépatique.

La CPK catalyse la transformation de créatine + ATP en créatine phosphate + ADP. Cette réaction se fait en présence de NADH dont la transformation en NAD<sup>+</sup> est proportionnelle à l'activité CPK. La mesure de l'activité se fait par spectrophotométrie à 340 nm.

Le dosage des CPK est un paramètre qui doit pouvoir être disponible dans l'heure 24 h sur 24 h. En pathologie adulte, la recherche de l'infarctus du myocarde en est l'indication urgente principale. Le niveau d'élévation des CPK dans cette pathologie reflète la superficie du territoire myocardique infarcté. En pédiatrie, les atteintes myocardiques sont plus rares (nous en avons vu les étiologies ci-dessus pour la LDH). En pédiatrie, une augmentation des CPK doit toujours faire évoquer une atteinte musculaire avec rhabdomyolyse. Dans un contexte aigu, il faut évoquer les différentes rhabdomyolyses de l'enfant qui sont

CPK	
Tube	Sec
Méthode	AE/S
Volume* M	5 ml, 10 µL
Volume* µ E	0,5 ml, 10 µL
Urgence	+++

M : Macrométhode

µ E : Microméthode enfant

La prise d'essai pour les CPK MB est de 12 µl

AE/C : Activité enzymatique par spectrophotométrie

\* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

surtout traumatiques mais qui peuvent être dues à des causes rares toxiques ou métaboliques. Une augmentation de la CPK peut aussi se voir dans les pathologies neurologiques centrales, soit par lésion neuronale, soit lors d'état de mal convulsif, soit par l'hyperactivité musculaire liée aux convulsions. La différence se fera alors sur l'analyse des isoenzymes MM ou BB dans le cas précis. Enfin une concentration très élevée de CPK (même sans signes cliniques chez le petit nourrisson) devra systématiquement faire évoquer une myopathie et en particulier une dystrophie musculaire.

### *f- L'amylase*

L'amylase est une enzyme qui est sécrétée par les glandes salivaires et le pancréas. Elle franchit le filtre rénal et se retrouve dans les urines sans perte d'activité. Fait notable, l'amylasurie est mesurée aussi habituellement que l'amylasémie et a également une valeur sémiologique. En cas de doute sur l'origine salivaire ou pancréatique d'une hyperamylasémie, le dosage de la lipase (exclusivement d'origine pancréatique) permettra d'orienter le diagnostic.

L'amylase hydrolyse les liaisons  $\alpha$  1-4 glucosidiques qui unissent les maillons glucose de la chaîne de l'amylose ou d'un substrat artificiel. Le substrat donne une coloration avec l'iode dont la décroissance permet de mesurer l'activité de l'amylase plasmatique ou urinaire.

Le dosage de l'amylasémie fait partie du bilan urgent de toute symptomatologie abdominale aiguë. Ce dosage doit être réalisable en urgence 24 h/24 h. La pancréatite est plus rare chez l'enfant que chez l'adulte et les étiologies sont en général différentes. Elle sera systématiquement évoquée devant un traumatisme abdominal ou l'apparition d'un tableau abdominal aigu chez l'enfant. La pancréatite peut également être d'origine toxique, en particulier dans certains protocoles de chimiothérapie anticancéreuse ou être d'origine malformative (kyste du cholédoque, obstruction des voies biliaires, sténose congénitale de l'ampoule de Vater, anomalie d'insertion des canaux biliaires, duplications pancréatiques, diverticule duodénal...). En général le traitement sera médical, la chirurgie étant réservée en urgence aux formes gravissimes puis aux complications secondaires (faux kystes du pancréas...). La surveillance des amylases sanguine et urinaire est fondamentale et permettra d'apprécier l'évolution du tableau de la pancréatite. En conclusion, même si la pancréatite est une cause beaucoup plus rare chez l'enfant que chez l'adulte des douleurs abdominales aiguës, le dosage de l'amylase doit absolument rester systématique pour ne pas retarder un traitement médical qui suffit le plus souvent à améliorer la situation.

Amylase	
Tube	Sec ou hépariné
Méthode	AE/C
Volume M	5 ml, 3 $\mu$ L
Volume* $\mu$ E	0,5 ml, 3 $\mu$ L
Urgence	+++

M : Macrométhode

$\mu$  E : Microméthode enfant

AE/C : Activité enzymatique par colorimétrie

\* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

## ■ X. LE BILAN HÉPATIQUE

Le foie régit un grand nombre de métabolismes. Il a un rôle de synthèse, de dégradation et d'élimination de certaines substances (l'ammonium par exemple). C'est un organe fon-

damental dans le métabolisme énergétique et dans la régulation des grands équilibres. Les atteintes hépatiques se traduiront souvent par une cytolyse que nous avons vue plus haut, mais aussi par différents tableaux clinico-biologiques que nous allons envisager successivement : l'ictère, l'insuffisance hépatocellulaire et l'hyperammoniémie qui est souvent secondaire, mais pas toujours, à l'insuffisance hépatocellulaire.

### a- Les hyperbilirubinémies

La bilirubine est un pigment tétrapyrrolique qui provient de l'ouverture oxydative du noyau des porphyrines, qui constituent l'hème, groupement prosthétique de l'hémoglobine et des enzymes héminiques. Les hyperbilirubinémies entraînent très vite un ictère cutané-muqueux qui domine la scène clinique et qui en permet un diagnostic précoce. Chez le sujet normal, plus de 90 % de la bilirubine provient de la dégradation de l'hémoglobine des érythrocytes au moment de leur destruction. La bilirubine libre (insoluble dans l'eau) passe dans le plasma, et se complexe fortement à l'albumine qui l'amène aux hépatocytes où elle est glucurono-conjugée. Cette bilirubine conjugée sera normalement éliminée via les voies biliaires par voie fécale. Au niveau intestinal, une faible partie sera hydrolysée par des bactéries puis réduites en urobilinogène et stercobilinogène qui sont soit éliminés dans les selles ou qui subissent un cycle entérohépatique ou bien pour une faible partie sont éliminés par voie urinaire.

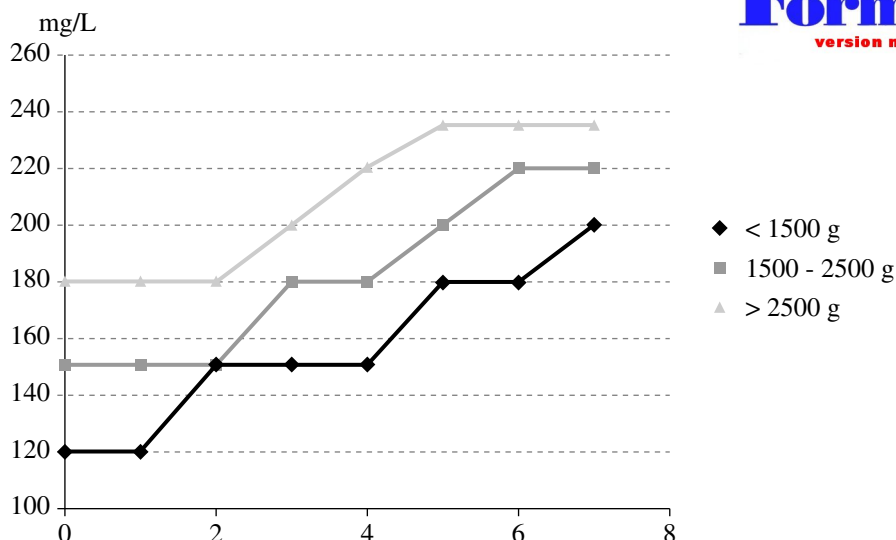
Le dosage de la bilirubine se fait par méthode colorimétrique après une diazo-réaction qui permet de doser la bilirubine directe ou la bilirubine totale après adjonction d'un agent solubilisant (le plus souvent un détergent) qui permet de solubiliser la bilirubine libre. Celle-ci est calculée par différence (Bilirubine totale – Bilirubine directe).

En réanimation pédiatrique, le dosage de la bilirubine doit être systématique dans toutes les atteintes hépatiques et hémolytiques. Il faut tout de suite souligner l'importance fondamentale de ce dosage en néonatalogie étant donné la toxicité de la bilirubine sur le cerveau du nouveau-né si sa concentration dépasse un seuil toxique, fonction du poids, du terme et de l'âge postnatal de l'enfant. Une concentration supérieure au seuil devra, alors, entraîner une épuration urgente soit dans un premier temps par photothérapie, soit par exsanguino-transfusion si la photothérapie est insuffisamment efficace.

Bilirubine totale et directe	
Tube	Sec ou hépariné
Méthode	C/DR
Volume M	5 ml, 20 µL
Volume* µ E	0,5 ml, 20 µL
Volume* µ P	0,4 ml, 12 µL
Urgence	+++

M : Macrométhode  
 µ E : Microméthode enfant  
 µ P : Microméthode prématuré  
 C/DR : colorimétrie après diazo-réaction  
 \* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.





**Figure 2 :** Seuil d'exsanguino-transfusion chez les nouveau-nés en fonction de la bilirubinémie, du poids et de l'âge en jours

La bilirubine est normalement légèrement plus élevée chez le nouveau-né pendant la première semaine de vie. Étant normale à la naissance (< 20 mg/L), elle peut s'élever jusqu'à 160 mg/L en fin de première semaine pour se normaliser par la suite. Les ictères néonataux peuvent avoir de nombreuses causes et doivent être séparés en ictères à bilirubine libre ou conjuguée. Les différentes étiologies sont résumées dans le tableau 2. L'étiologie la plus fréquente reste le déficit relatif de la glucurono-conjugaison qui peut survenir chez le prématuré ou chez le nouveau-né à terme. Transitoire, il sera généralement maîtrisé facilement par la photothérapie. La bilirubinémie devra être surveillée régulièrement chez le nouveau-né et le prématuré ; son dosage doit faire partie du bilan d'urgence réalisable dans l'heure et 24 h/24 h. L'adaptation du traitement symptomatique et étiologique peut demander des contrôles itératifs.

**Tableau II :** Étiologies des ictères néonataux

Ictères à bilirubine libre	Ictères à bilirubine conjuguée
<p><i>Ictère par hémolyse :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Maladie hémolytique par incompatibilité fœto-maternelle</li> <li>- Causes infectieuses</li> <li>- Causes toxiques</li> <li>- Affections hémolytiques constitutionnelles</li> </ul> <p><i>Ictère par résorption sanguine :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Céphalématomes, bosse séro-sanguine, ecchymoses multiples</li> </ul> <p><i>Ictère par déficit de la glucurono-conjugaison</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ictère familial : Maladie de Crigler-Najjar, maladie de Gilbert, ictère de l'allaitement maternel, syndrome de Lucey-Driscoll.</li> <li>- Ictère physiologique du nouveau-né</li> </ul> <p><i>Ictère toxique :</i> vitamine K, chloral, rifamycine</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Ictère associé : au myxœdème congénital, à la sténose duodénale ou aux autres malformations digestives hautes</li> </ul>	<p><i>Ictère manifestation secondaire :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Médicamenteux, après hémolyse néonatale (syndrome de « bile épaisse »), au cours d'une infection généralisée</li> </ul> <p><i>Ictère d'allure primitive :</i></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Maladie intra-hépatique : infectieuse (bactérienne, parasitaire ou virale), métabolique (déficit en <math>\alpha</math>1antitrypsine, galactosémie, fructosémie, hémochromatose néonatale, maladie de Niemann-Pick mucoviscidose, anomalie des sels biliaires, maladies peroxysomales)</li> <li>- Maladie extra-hépatique : Atrésie des voies biliaires, pseudo-kyste du cholédoque, compression extrinsèque des voies biliaires</li> </ul>

Hormis la période néonatale, le dosage de la bilirubine est indispensable en cas d'atteinte hépatique ou d'ictère cutanéomuqueux. Les étiologies rejoignent alors celles qui sont rencontrées chez l'adulte (insuffisance hépatocellulaire, hépatites fulminantes immunes, virales ou toxiques, hépatopathie chronique en phase terminale). Il faut y ajouter toutes les maladies hépatiques d'origine métaboliques en particulier la maladie de Wilson, le déficit en  $\alpha$ 1-antitrypsine, la tyrosinémie de type I, les anomalies du métabolisme du fructose et du galactose. Enfin chez l'enfant, les ictères se voient dans les stades terminaux des hépatopathies cholestatiques de l'enfant (atrésie des voies biliaires intra ou extra-hépatiques) ainsi que dans la mucoviscidose qui a parfois une expression hépatique importante. Les étiologies obstructives sont beaucoup plus rares chez l'enfant que chez l'adulte.

### ***b- L'ammoniémie***

L'ion ammonium :  $\text{NH}_4^+$  représente le produit de dégradation de l'azote de l'organisme. Il est métabolisé par le cycle de l'urée qui ne fonctionne que dans le foie pour former l'urée qui sera éliminée dans les urines. L'ammoniémie est remarquablement constante, entre 30 et 50  $\mu\text{mol/L}$ . Il y a un équilibre entre l'ammoniémie et la glutamine plasmatique, qui véhicule dans le sang deux atomes d'azote par molécule. En cas de déchéance hépatique, le cycle de l'urée ne fonctionne plus, et l'ammoniémie s'élève.  $\text{NH}_4^+$  est toxique pour le tissu cérébral et en cas d'augmentation prolongée entraîne des dégâts neuronaux irréversibles voire une mort cérébrale. Ce dosage de  $\text{NH}_4^+$  doit pouvoir être réalisé en urgence dans tout service de réanimation pédiatrique.

Ce dosage est assez difficile, il se fait sur 0,5 ml de sang total artériel hépariné. Le recueil et l'acheminement au laboratoire en urgence doivent être irréprochables sous peine de rendre le résultat ininterprétable. L'ammonium est fixé sur une résine échangeuse de cations, on l'élue puis le  $\text{NH}_4^+$  est dosé par colorimétrie dans l'éluat.

En réanimation pédiatrique, le dosage de l'ammoniémie doit être systématique dans toutes les situations d'insuffisance hépatique, dans certaines intoxications (valproate de sodium...) mais aussi dans tous les troubles de conscience inexplicables car nombre de maladies héréditaires du métabolisme s'expriment par des troubles aigus ou chroniques de la conscience et s'accompagnent d'une hyperammoniémie parfois isolée. Il faut noter qu'un trouble de conscience anormalement prolongé survenant après un épisode convulsif traité par valproate de sodium doit impérativement faire doser l'ammoniémie quel que soit l'âge du patient. Le traitement de ces hyperammoniémies graves de l'enfant fera appel à l'épuration extrarénale en urgence et nécessitera un contrôle régulier de ce paramètre afin d'évaluer l'efficacité et de pouvoir réajuster la thérapeutique. Chez le nouveau né, il faut noter l'hyperammoniémie transitoire qui ne s'accompagne jamais d'augmentation de la glutamine et qui pourrait être due à un shunt vasculaire par retard de la fermeture du canal d'Arantius. Ce shunt empêche l'ammonium d'être détoxifié au niveau hépatique. Cet état transitoire peut nécessiter aussi une épuration extrarénale.

Ammoniémie	
Tube	Hépariné dans la glace
Méthode	C/E
Volume* M	5 ml, 100 $\mu\text{L}$
Volume* $\mu$ E	1 ml, 100 $\mu\text{L}$
Volume* $\mu$ P	0,8 ml, 53 $\mu\text{L}$
Urgence	+++

M : Macrométhode

$\mu$  E : Microméthode enfant

$\mu$  P : Microméthode prématuré

C/DR : colorimétrie après élution sur résine échangeuse de cation

\* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

## ■ XI. L'HÉMOSTASE

Les troubles hémorragiques surviennent en réanimation pédiatrique dans trois cadres différents : les traumatismes accidentels ou après chirurgie, les anomalies des plaquettes (qualitatives ou quantitatives) et les anomalies des facteurs de coagulation qu'ils soient innés ou acquis (déficit congénital d'un facteur de la coagulation, insuffisance hépatocellulaire, coagulation intravasculaire disséminée). L'évaluation de l'hémostase se fait essentiellement par des tests fonctionnels de la coagulation : temps de Céphaline activée, temps de prothrombine, temps de thrombine. L'analyse des différents facteurs de la coagulation se fait également par mesure du temps de coagulation en ajoutant le sérum à un sérum témoin déficitaire pour le facteur mesuré. Les résultats étant exprimés en % de facteur présent. Le fibrinogène est également mesuré par méthode fonctionnelle, sur le même principe que celui des facteurs de la coagulation.

L'étude de l'hémostase est obligatoire avant toute intervention chirurgicale. Dans les situations de réanimation lourde, les facteurs pouvant altérer la coagulation peuvent être multiples et se potentialisent les uns les autres. Par exemple, un syndrome hémorragique peut nécessiter de multiples transfusions dont on sait qu'elles sont un facteur d'aggravation du syndrome hémorragique ; une thrombopénie et une insuffisance hépatocellulaire (souvent conjointes lors d'un sepsis) potentialisent et entraînent des troubles de l'hémostase clinique et biologique qu'il faut traiter de façon étiologique mais aussi de façon substitutive.

Devant toute anomalie clinique (syndrome hémorragique provoqué ou spontané) il faut donc faire un bilan complet comprenant initialement une étude globale de la coagulation par les tests globaux : temps de céphaline activée qui explore la voie d'activation externe et le temps de prothrombine qui explore la voie d'activation interne. Le fibrinogène est analysé systématiquement. Les résultats sont confrontés au nombre de plaquettes circulantes. L'analyse des différents facteurs ne se fera que s'il y a une perturbation sur les tests globaux.

En pédiatrie, ce bilan complet peut se faire sur un tube citrate de 1,8 ml. La prise d'essai pour chacune de ces mesures est d'environ 10 µl ce qui permet de doser les facteurs de la coagulation sur un même tube si les résultats des premières analyses sont perturbés. Il faut noter que le prélèvement sanguin au talon en « microméthode » entraîne souvent une coagulation du sang et qu'il faudra toujours lui préférer si possible un prélèvement en macrométhode qui sera plus sûr.

Le tableau ci-dessous rappelle les différents tests habituellement utilisés et leur interprétation.

**Tableau III:** Différents tests de la coagulation et cadres pathologiques qu'ils explorent

Test	Valeur normale	Mécanisme étudié	Pathologie
Plaquettes	150-300 000/mm <sup>3</sup>	Production plaquettaire	Thrombocytopénie
T S	< 9 minutes	Intégrité vasculaire	Vascularites
TCA	27-37 sec	Voie d'activation externe	Déficits en facteur XII, XI, IX, VIII, X, V, II, fibrinogène, héparine
TP	10-13 sec	Voie d'activation interne	Déficits en facteur VII, X, V, II, AVK
TT	< 4 sec/témoin	Antithrombine, fibrinogène	Héparine, Hypofibrinogénémie
Fibrinogène	> 180 mg/dl	Fibrinogène	Dysfibrinogénémie
Test éthanol	Négatif	Production des monomères de la fibrine	CIVD
PDF	Absents	Fibrine, fibrinogénolyse	CIVD, thromboses, fibrinogénolyse primitive

TS : temps de saignement, TCA : temps de céphaline activé, TP : temps de prothrombine, TT : temps de thrombine, PDF, produits de dégradation de la fibrine, CIVD : coagulation intravasculaire disséminée, AVK : traitement par antivitamine K.

## ■ XII. LES MARQUEURS D'HÉMOLYSE

L'arrivée d'un prélèvement hémolysé au laboratoire est une réalité quotidienne, il n'est pas toujours évident, de distinguer l'hémolyse liée à une difficulté de prélèvement en microméthode ou au transport inadéquat (temps, conditions de température) et celle qui est liée à une authentique hémolyse intravasculaire.

Le globule rouge a une durée de vie normale de 120 jours puis il subit une hémolyse physiologique au niveau du système réticulo-endothélial de la moëlle osseuse, du foie et de la rate. Le degré d'hémolyse va dépendre de facteurs corpusculaires (membrane érythrocytaire, métabolisme énergétique de l'hématie, structure de l'hémoglobine) et de facteurs extracorporels (anticorps antiérythrocytes, agents toxiques hémolysants, anomalies vasculaires [angiomes], splénomégalie, prothèses cardiaques, microangiopathie thrombotique, sepsis, brûlures étendues). Le diagnostic d'hémolyse aiguë se base sur trois signes cliniques : anémie, ictère et splénomégalie associés à des signes biologiques : anémie normochrome, bilirubine libre élevée, hypersidérémie et baisse de l'haptoglobine. Il peut y avoir une réticulocytose associée. Dans ce contexte, il faudra rechercher une hyperkaliémie.

Le dosage de l'haptoglobine se fait par néphélobimétrie. Cette analyse doit être disponible en urgence car les autres marqueurs biologiques d'hémolyse sont moins spécifiques que l'haptoglobine d'une hémolyse intravasculaire. L'haptoglobine forme un complexe avec l'hémoglobine ; ce complexe est rapidement détruit d'où la disparition de l'haptoglobine circulante.

Le prélèvement en microméthode entraîne un risque d'hémolyse et doit donc être prohibé pour ce dosage en cas de suspicion clinique d'hémolyse. L'hémolyse est la complication la plus grave des transfusions de concentrés érythrocytaires. Elle peut être due à une incompatibilité transfusionnelle, ou à une infection du produit transfusé. L'arrêt de la transfusion est une urgence associée au traitement symptomatique des complications de cette hémolyse intravasculaire (fièvre, choc, douleurs abdominales aiguës, hémoglobinurie, urines couleur porto, néphrite tubulaire aiguë anurique dans les cas les plus graves). Les autres hémolyses sont souvent moins aiguës, le diagnostic sera celui d'une anémie avec ictère ± splénomégalie. Les étiologies corpusculaires ont été évoquées dans l'introduction de ce chapitre. Il faut citer aussi, les anémies hémolytiques auto-immunes post-infectieuses chez l'enfant qui s'expriment surtout par des anémies profondes souvent bien supportées cliniquement, et toutes les hémolyses mécaniques (angiome microangiopathie thrombotique...). La cause la plus fréquente d'anémie hémolytique non corpusculaire chez l'enfant reste en réanimation médicale le syndrome urémo-hémolytique ou elle sera accompagnée d'une insuffisance rénale et d'une thrombopénie.

Haptoglobine	
Tube	Sec
Méthode	N
Volume* M	5 ml, 40 µL
Volume* µ E	0,5 ml, 40 µL
Urgence	++

M : Macrométhode

µ E : Microméthode enfant

N : Néphélobimétrie

\* : Les volumes indiqués comprennent le volume prélevé puis le volume de prise d'essai de l'analyse.

## ■ CONCLUSION

Nous avons passé en revue les principaux dosages biochimiques utilisés en réanimation pédiatrique. D'autres dosages biologiques sont régulièrement réalisés mais n'ont pas été

envisagés ici : les bilans endocriniens sont généralement réalisés en radio-immunologie, les bilans métaboliques sont décrits ailleurs dans cet ouvrage et les marqueurs tumoraux d'utilisation rare et plus en rapport avec le diagnostic de fond qu'avec la symptomatologie ayant justifiée la prise en charge en réanimation.

Nous avons essayé de présenter les principaux paramètres biochimiques qui sont indispensables au contrôle des grands équilibres de l'organisme (ionogramme...), les protéines de l'inflammation ou les paramètres utilisés pour évaluer l'intégrité de certains organes (foie, rein, muscles...). En néonatalogie, et surtout chez le prématuré, l'immaturation de certains des mécanismes de régulation, la très petite taille des enfants, rend indispensable le contrôle régulier de ces paramètres et la connaissance des normes pédiatriques est indispensable à leur interprétation correcte.

La miniaturisation des techniques a permis de faire des contrôles suffisamment fréquents sans pour autant entraîner de spoliation sanguine trop importante. Ces techniques sont possibles au prix d'une manipulation plus importante des échantillons sanguins par le personnel qui effectue le prélèvement et qui réalise ces dosages au laboratoire par comparaison avec ce qui est fait pour les dosages demandés pour les patients adultes. Néanmoins, la miniaturisation des tubes de recueil, la mise en place du prélèvement dit « en microméthode », la baisse du volume des prises d'essai pour les dosages à rendu accessible, pour les plus petits enfants, tous les dosages biochimiques utilisés chez l'adulte. L'accessibilité des dosages biochimiques ne doit pas faire oublier que ces paramètres ne doivent être demandés que lorsqu'ils sont indispensables aux soins des enfants. Les pics de demande d'examen biochimiques au début de chaque semestre (nouveaux internes) montrent que les demandes ne sont pas toujours suffisamment contrôlées et pourraient parfois être évitées. Enfin le décloisonnement des laboratoires hospitaliers devrait permettre de réaliser sur un même prélèvement plusieurs types d'examen et ainsi éviter la spoliation sanguine qui est un risque toujours important en pédiatrie et surtout en néonatalogie.

## RÉFÉRENCES

HUAULT G., LABRUNE B. Pédiatrie d'urgence. 4<sup>e</sup> édition. Médecine-Sciences, Flammarion Éd. 1993.

LACROIX J., GAUTHIER M., BEAUFILS F. Urgences et soins intensifs pédiatriques. Une approche clinique multidisciplinaire. Les presses de l'université de Montréal. Doin Éd. 1994.

BLUMER J.L. A practical guide to pediatric intensive care. Third edition. Mosby-Year Book Ed. 1990.

ROGERS M.C., ACKERMAN A.D., DEAN J.M., FALCKLER J.C., NICHOLS D.G., WETZEL R.C. Textbook of pediatric intensive care. Second edition. William & Wilkins Ed. 1992.

REINHART K., MEISNER M., HARTOG C. Diagnosis of sepsis: Novel and conventional parameters. *Advance in Sepsis*. 2001, 1 ; 42-51.

BERNARD S. Révision accélérée en biochimie clinique. Deuxième édition. Maloine s.a. éditeur. Paris. 1985.

BERHMAN R.E., VAUGHAN V.C. Textbook of pediatrics, Nelson, twelfth edition. Saunders WB publishers, Philadelphia, 1987.

## ■ I. ORIENTATION DU DIAGNOSTIC D'UN COMA MÉTABOLIQUE

---

Bien que les maladies métaboliques soient des maladies rares, elles constituent le plus souvent des urgences diagnostiques et thérapeutiques, ce qui rend nécessaire de les envisager d'emblée devant tout coma de l'enfant et d'orienter le diagnostic par un bilan de base qui doit être entrepris en urgence, en même temps que les examens nécessaires à la recherche des autres étiologies des comas (infections, causes neurologiques, toxiques...). En effet, il n'existe pas de « bilan métabolique » type. La diversité des maladies métaboliques et la difficulté de réalisation des investigations spécifiques nécessite que les investigations appropriées soient orientées en fonction de la situation clinique et des résultats de ce bilan de base et, au mieux, après avis d'un expert dans ces maladies. Le tableau I résume le bilan de base à réaliser devant toute situation aiguë (dégradation neurologique, coma, malaise grave, acidose...) suspecte d'origine métabolique. Ce bilan de base doit être fait en urgence, au moment des manifestations aiguës, et permet d'orienter ensuite rapidement la recherche d'une anomalie spécifique par des examens plus spécialisés. La conduite du diagnostic d'un coma avec anomalie métabolique spécifique est schématisée dans la figure 1.

## ■ II. ORIENTATION DU DIAGNOSTIC D'UNE ACIDOSE MÉTABOLIQUE

---

### II.1- Définition

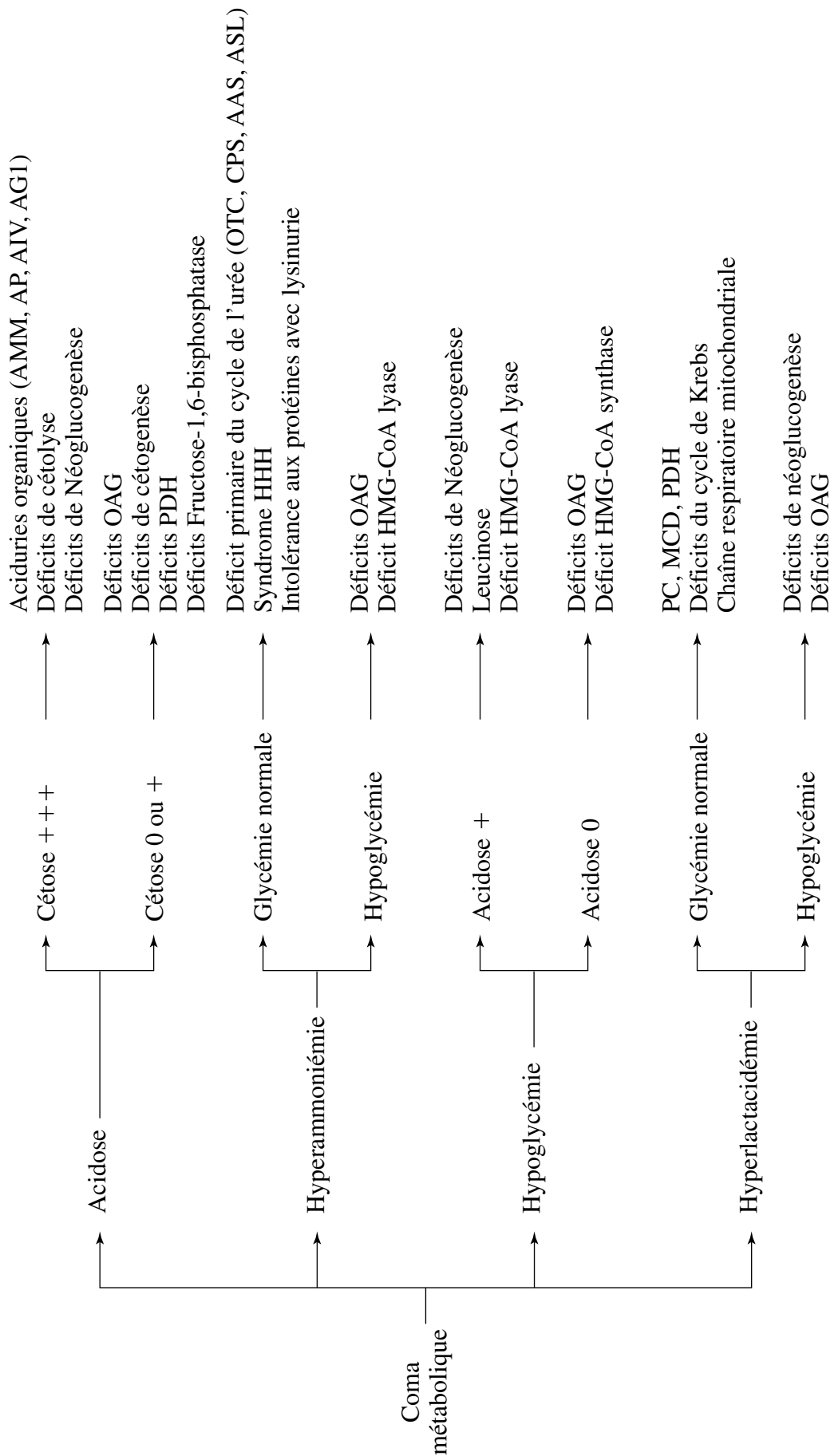
L'acidose métabolique peut être définie par l'association d'une diminution du pH < 7,30 à une diminution de la concentration plasmatique d' $\text{HCO}_3^-$  < 18 mmol/l.

### II.2- Causes principales des acidoses métaboliques

L'acidose métabolique est une situation fréquente en pédiatrie, et particulièrement en néonatalogie. La conduite diagnostique peut se schématiser en 3 étapes :

1- éliminer les causes d'acidose métabolique secondaire, situations de loin les plus fréquentes mais où l'acidose s'inscrit le plus souvent dans un contexte clinico-biologique évocateur :

- toutes les situations d'hypoxie-anoxie quelles qu'en soit la cause : souffrance fœtale aiguë, détresse respiratoire sévère, défaillance cardiaque ou circulatoire sévère...
- déshydratation sévère
- états septiques
- état catabolique majeur (réanimation)
- intoxications



AMM = Acidémie Méthylmalonique, AP = Acidémie Propionique, AIV = Acidémie Isovalérique, AGI = Acidurie Glutarique type I, OAG = Oxydation des Acides Gras, PDH = déficit en Pyruvate Déshydrogénase, OTC = déficit en Ornithine Carbamyl Transférase, CPS = déficit en Carbamyl Phosphate Synthétase, AAS = déficit en Arginino Succinate Synthétase, ASL = déficit en Argininosuccinate Lyase, HHH = Hyperammoniémie-Hyperomithinémie-Homocitrullinémie, PC = déficit en Pyruvate Carboxylase, MCD = déficit multiple des Carboxylases.

**Figure 1 – Diagnostic étiologique d'un coma métabolique**

**Tableau I : Bilan biologique d'orientation.**

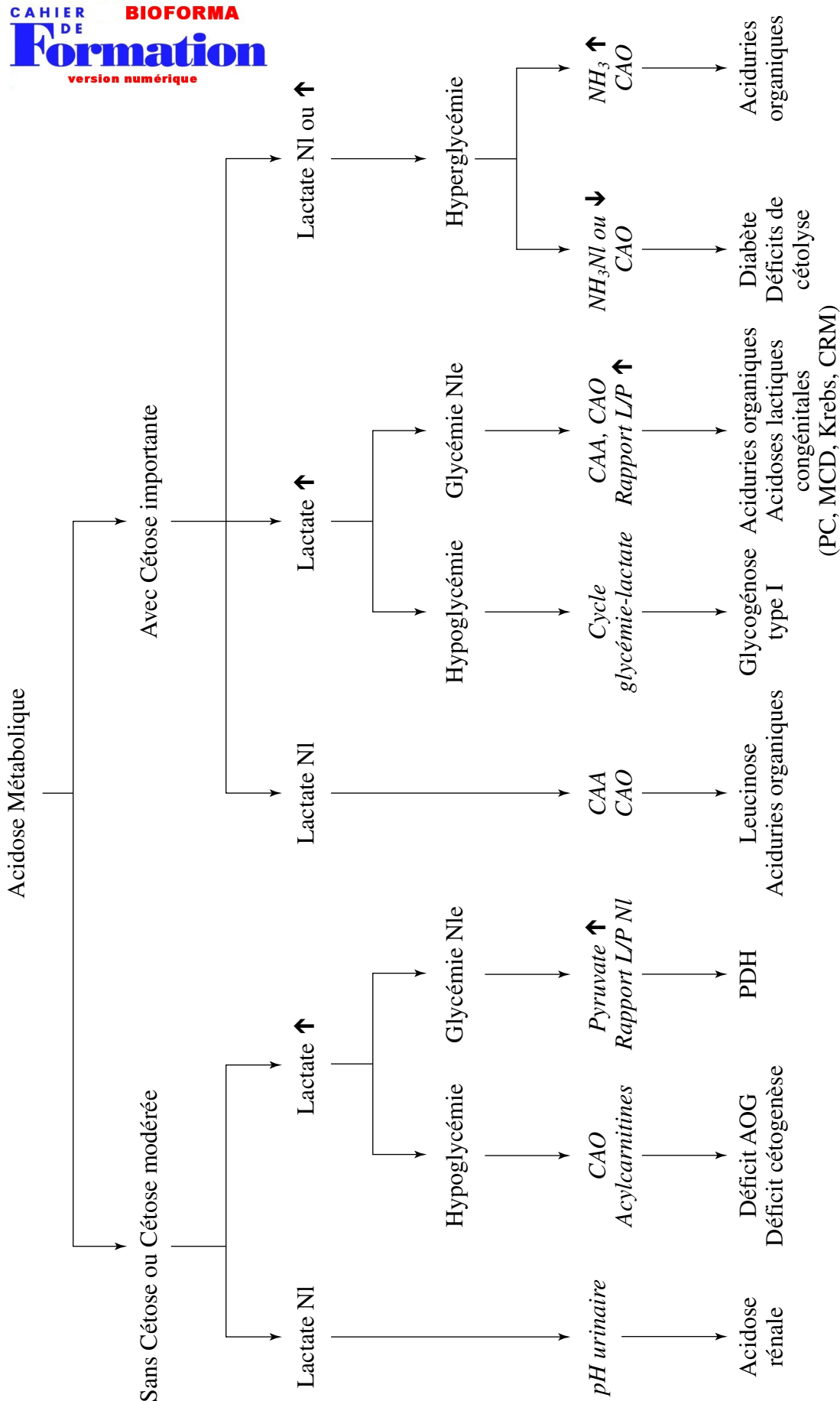
<b>Examens d'orientation (dosages en urgence) :</b>	
Sang :	NFS plaquettes Ionogramme sanguin Glycémie Gaz du sang Calcémie Bilan hépatique Taux de Prothrombine CPK Lactate, Pyruvate Corps cétoniques Acides gras libres Ammoniémie
Urines :	Rechercher une odeur particulière Recherche de corps cétoniques avec bandelette spécifique Recherche de sucres, de substances réductrices pH urinaire Ionogramme Réaction au DNPH (acides $\alpha$ -cétoniques) Sulfitest (Merck®) Acide urique
Divers :	Ponction lombaire Radiographie poumons Echocardiographie EEG Imagerie cérébrale
<b>Examens de confirmation (à prélever en période aiguë même si dosage ultérieur) :</b>	
Sang :	Plasma congelé : 5 ml à $-20^{\circ}\text{C}$ Sang total prélevé sur EDTA et congelé à $-20^{\circ}\text{C}$ Sang total prélevé sur papier buvard (Guthrie)
Urines :	Urines (premières urines émises à l'arrivée du patient) congelées à $-20^{\circ}\text{C}$
LCR congelé à $-20^{\circ}\text{C}$	
<b>Prélèvement post-mortem si décès rapide ou orientés dans un second temps :</b>	
Biopsie de peau pour culture de fibroblastes Biopsies de muscle, de foie à congeler immédiatement (azote liquide) et conserver à $-80^{\circ}\text{C}$	

2- éliminer une perte de bicarbonates d'origine digestive (diarrhée, occlusion...) ou rénale (acidoses tubulaires, uropathie malformative, insuffisance rénale globale...)

3- lorsque l'acidose métabolique paraît « primitive », avec un pH urinaire adapté (acidification avec  $\text{pH} < 6,0$ ) il convient alors de rechercher un trou anionique ( $> 15 \text{ mmol/l}$ ) sur le ionogramme et d'effectuer en urgence un bilan complémentaire (Tableau II) à la recherche d'une étiologie métabolique dont la conduite diagnostique est schématisée dans la figure 2.

En effet, l'acidose métabolique peut être due soit à une perte de bicarbonates (dans les urines ou les selles) soit à une accumulation d'un acide qui peut être soit un acide physiologique en excès : acides cétoniques ou acide lactique, soit un acide non physiologique accumulé : toxique exogène ou endogène tel un acide organique. Il est à noter qu'une





CAO = Chromatographie des Acides Organiques, CAA = Chromatographie des Acides Aminés, L = Pyruvate, P = Pyruvate, OAG = Oxydation des Acides Gras, PDH = déficit en Pyruvate Déshydrogénase, PC = déficit en Pyruvate Carboxylase, MCD = déficit Multiple des Carboxylases, Krebs = Déficits primitifs du cycle de Krebs, CRM = Déficits primitifs de la Chaîne respiratoire Mitochondriale.

**Figure 2** – Diagnostic étiologique d'une acidose métabolique primitive

**Tableau II : Bilan biologique d'orientation à réaliser devant une acidose métabolique primitive**

<p><b>Examens d'orientation (dosages en urgence) :</b></p> <p>Sang (en période d'acidose et avant tout traitement) :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ionogramme sanguin</li> <li>Glycémie</li> <li>Bilan hépatique</li> <li>CPK</li> <li>Lactate, Pyruvate</li> <li>Corps cétoniques</li> <li>Acides gras libres</li> <li>Ammoniémie</li> </ul> <p>Urines (sur 1 miction en période d'acidose) :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>pH urinaire</li> <li>Recherche de corps cétoniques avec bandelette spécifique</li> </ul>
<p><b>Examens de confirmation (à prélever en période aiguë même si dosage ultérieur) :</b></p> <p>Sang (en période d'acidose et avant tout traitement) :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Chromatographie des acides aminés</li> <li>Acylcarnitines</li> </ul> <p>Urines (sur la 1<sup>re</sup> miction en période d'acidose) :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Chromatographie des acides organiques</li> </ul>

hypercétonémie suffisante pour entraîner une acidose entraîne toujours une cétonurie et peut donc être rapidement et aisément diagnostiquée au lit du malade par des bandelettes réactives (type Ketodiabur test®). L'interprétation des lactacidémies doit être prudente et une acidose ne peut être rapportée à une hyperlactacidémie que s'il existe une accumulation importante de lactate (> 6 mmol/l). La recherche d'acides organiques anormaux nécessite des examens plus complexes (GCMS) mais est dans cette situation un examen d'urgence.

### ■ III. ORIENTATION DU DIAGNOSTIC D'UN ÉTAT DE CÉTOSE

L'existence d'une cétonurie est toujours anormale chez le nouveau-né, alors que la cétose peut être physiologique chez le nourrisson et l'enfant. Son interprétation nécessite donc de connaître précisément l'état de nutrition du patient et de se référer à des normes pour l'âge et pour le temps de jeûne. Il existe un équilibre physiologique entre la production de corps cétoniques (CC) par le foie et la consommation par les tissus périphériques. De ce fait une accumulation de CC en quantité suffisante pour entraîner une acidose est presque toujours pathologique. Par contre, une cétose sans hypoglycémie, sans hyperlactacidémie et sans acidose est le plus souvent physiologique. Les causes les plus fréquentes des cétooses physiologiques sont les états de jeûne, les situations de catabolisme (notamment la fièvre), les vomissements, l'alimentation enrichie en triglycérides à chaînes moyennes (laits artificiels)...

L'orientation du diagnostic sera conduite en fonction de l'existence d'hypoglycémie associée ou non à la cétose, ainsi que de son caractère permanent ou transitoire. Les déficits de cétolyse (déficit en succinyl-CoA transférase et déficit en 3-céto-thiolase mitochondriale) entraînent souvent une cétose majeure déclenchée par un état catabolique, mais une cétose anormale plus modérée persiste, même à l'état nourri, après disparition du facteur catabolique déclenchant. Le déficit en enzyme débranchante (glycogénose type III) entraîne un état d'hypercétose dont le diagnostic est souvent facilité par l'association à une hépatomégalie importante et à des hypoglycémies de jeûne. Le déficit en glycogène synthase entraîne également un état d'hypercétose et le diagnostic peut être plus difficile du fait de l'absence de gros foie dans cette glycogénose particulière. L'existence d'hypoglycémies de jeûne et d'une hyperlactacidémie post-prandiale vont orienter le diagnostic. Si les déficits d'oxydation des acides gras sont habituellement des causes d'hypoglycémies sans cétose, une cétonurie est possible dans certains cas de déficit ne touchant que l'oxydation des acides gras à chaînes courtes ou moyennes (SCAD, SCHAD, MCAD) et laissant ainsi persister une capacité partielle de synthèse des CC. L'existence d'hypoglycémies avec cétose est également fréquemment observée dans les insuffisances surrénales sans que le mécanisme en soit clairement établi. Les acidoses lactiques congénitales (déficits du carrefour du pyruvate, déficits primitifs du cycle de Krebs, déficits de la chaîne respiratoire mitochondriale s'accompagnent fréquemment d'un état d'hypercétose mais sont dominés par l'association à une hyperlactacidémie. Le tableau 3-2 schématise l'orientation du diagnostic étiologique des états de cétose.

## ■ IV. ORIENTATION DU DIAGNOSTIC D'UNE HYPOGLYCÉMIE

---

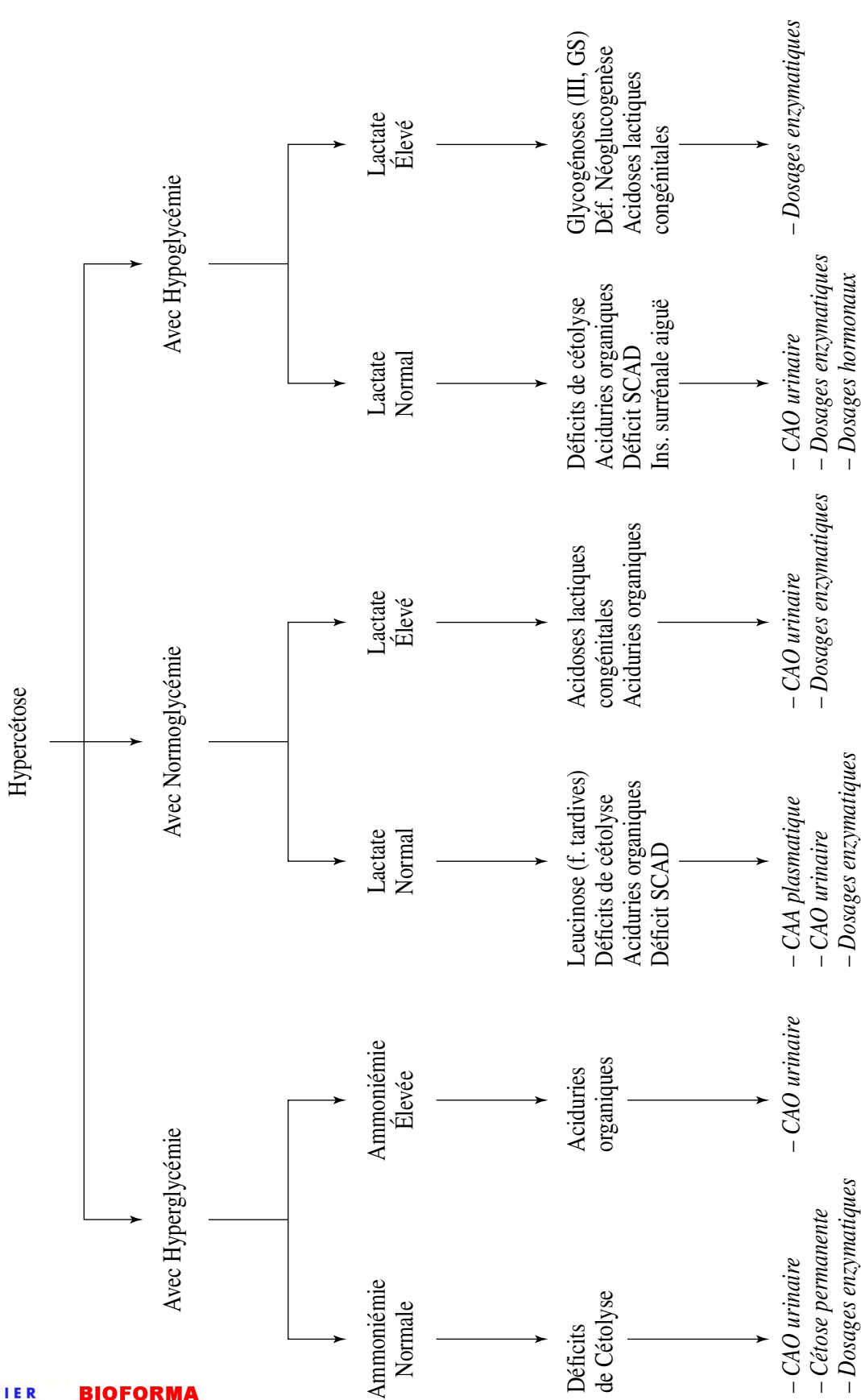
### IV.1- Définition

L'hypoglycémie peut être définie par une valeur de glycémie  $< 2,8$  mmol/l chez l'enfant et  $< 2,4$  mmol/l chez le nouveau-né à terme dans les 48 premières heures de vie. Il est important de rappeler que la glycémie ne peut être interprétée que si elle a été mesurée au laboratoire par une technique enzymatique de référence (glucose oxydase).

### IV.2- Causes principales des hypoglycémies de l'enfant

Si le traitement d'une hypoglycémie est une urgence, le diagnostic étiologique de la majorité des hypoglycémies de l'enfant repose le plus souvent sur le recueil de données cliniques et biologiques simples qui doivent être recueillies en urgence au moment de l'hypoglycémie.

Quatre éléments cliniques sont essentiels au diagnostic des hypoglycémies : l'âge de début des hypoglycémies, leur horaire de survenue par rapport aux repas, l'existence d'une hépatomégalie, la réponse de la glycémie à une injection de glucagon (test diagnostique et thérapeutique) et/ou la quantité de glucose nécessaire à la correction complète de l'hypoglycémie. À ces éléments cliniques doivent être associés un prélèvement de sang effectué au moment de l'hypoglycémie (tableau III) et le recueil de la première miction émise après l'hypoglycémie. Le recueil de ces renseignements permet le plus souvent d'éviter des épreuves fonctionnelles dangereuses (épreuve de jeûne) et qui ne doivent être réalisées que dans des centres spécialisés.



CAO = Chromatographie des Acides Organiques, CAA = Chromatographie des Acides Aminés, OAG = Oxydation des Acides Gras, GS = déficit en Glycogène Synthase, SCAD = Short-chain acyl-CoA déshydrogénase

Figure 3 – Diagnostic étiologique d'un état de cétose

**Tableau III : Bilan biologique d'orientation à réaliser devant une hypoglycémie**

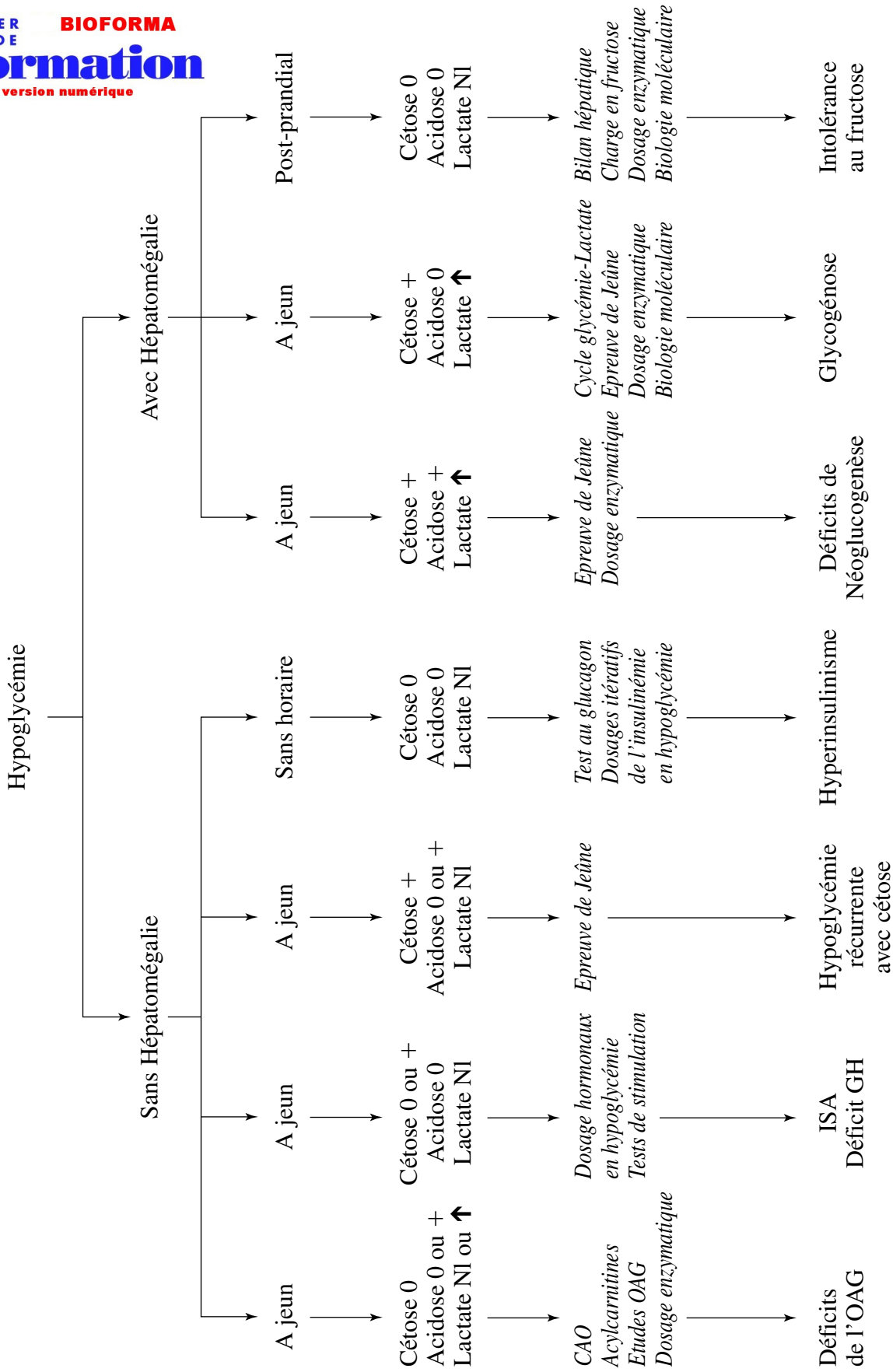
<p><b>Examens d'orientation (dosages en urgence) :</b></p> <p>Sang (en période d'hypoglycémie et avant tout traitement) :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Glycémie</li> <li>Ionogramme sanguin</li> <li>Gaz du sang</li> <li>Bilan hépatique</li> <li>CPK</li> <li>Lactate</li> <li>Corps cétoniques</li> <li>Acides gras libres</li> </ul> <p>Urines (sur la 1<sup>re</sup> miction suivant l'hypoglycémie) :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Recherche de corps cétoniques avec bandelette spécifique</li> </ul>
<p><b>Examens de confirmation (à prélever en période aiguë même si dosage ultérieur) :</b></p> <p>Sang (en période d'acidose et avant tout traitement) :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Insuline</li> <li>Cortisol</li> <li>Hormone de croissance</li> <li>Acylcarnitines</li> </ul> <p>Urines (sur les urines de la 1<sup>re</sup> miction suivant l'hypoglycémie) :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Chromatographie des acides organiques</li> </ul>

#### **IV.2.1- Principales étiologies des hypoglycémies métaboliques :**

- *Glycogénose de type Ia* : cette maladie liée à un déficit en glucose-6-phosphatase bloque à la fois la glycogénolyse (le glycogène hépatique ne peut être utilisé pour maintenir une glycémie normale) et la néoglucogénèse (le lactate et les acides aminés gluco-formateurs comme l'alanine ne peuvent être utilisés). Elle entraîne des hypoglycémies profondes et répétées, survenant après un temps de jeûne très court (2-4 heures) associées à une hyperlactacidémie se majorant également au jeûne. Il existe un gros foie de consistance molle noté dès les premières semaines de vie qui oriente rapidement le diagnostic. Le bilan biologique montre une hypertriglycéricidémie souvent importante, et une hyperuricémie. Une forme plus rare, la glycogénose de type Ib associe en plus une neutropénie. Le diagnostic est confirmé par la mesure de l'activité enzymatique sur biopsie de foie et/ou par l'étude moléculaire du gène en cause (différent selon le type Ia et Ib).

- *Anomalies de la néoglucogénèse* : le déficit le plus fréquent est le déficit en fructose-1, 6-bisphosphatase qui entraîne des hypoglycémies de jeûne associées à une acidose lactique survenant au jeûne prolongé, révélées le plus souvent dans les deux premières années de vie et associées à une hépatomégalie plus ou moins importante et régressant le plus souvent après l'épisode de jeûne. Le déficit en phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) est lui exceptionnel. Dans le cas du déficit en pyruvate carboxylase, il existe une souffrance neurologique néonatale ou dans les premiers mois de vie, associée à une acidose lactique souvent majeure. Les hypoglycémies sont fréquentes mais apparaissent rarement comme le signe révélateur de la maladie.

Le diagnostic est orienté par une épreuve de jeûne réalisée en milieu spécialisé (épreuve dangereuse) qui montre la diminution brutale de la glycémie à partir de 10 heures de jeûne



CAO = Chromatographie des Acides Organiques, OAG = Oxydation des Acides Gras, ISA = Insuffisance Surrénale Aiguë, GH = Hormone de croissance.

**Figure 4 – Diagnostic étiologique d'une hypoglycémie**

associée à une élévation de la lactacidémie. Le dosage enzymatique peut être réalisé à partir de lymphocytes ou d'une biopsie de foie pour la fructose-1,6-bisphosphatase et uniquement à partir d'une biopsie de foie pour la PEPCK. Le dosage de la PC se fait à partir de lymphocytes, de fibroblastes cultivés ou d'une biopsie de foie.

- *Anomalies de la bêta-oxydation mitochondriale des acides gras* : l'oxydation des acides gras fournit les corps cétoniques sources d'énergie pour l'organisme et qui permettent une épargne de glucose. D'autre part elle permet à l'état de jeûne de fournir l'énergie nécessaire pour la néoglucogenèse hépatique. Il existe plus de 14 déficits connues dont la sévérité et la symptomatologie est très variable allant de défaillances multi-viscérales néonatales sévères à des maladies asymptomatiques. L'hypoglycémie est de survenue le plus souvent précoce, dans les trois premiers jours de vie, ou survenant après un jeûne prolongé ou dans un contexte infectieux, associée à une hypotonie, un malaise grave avec collapsus, un trouble du rythme cardiaque, et dans plus de la moitié des cas aboutissant au décès. Sur le plan biologique on observe une acidose métabolique sévère avec une acidose lactique, une hyperammoniémie modérée, une cytolysse hépatique, parfois une insuffisance hépatique avec diminution du TP et l'absence de corps cétoniques. Chez le grand enfant, le déficit peut s'exprimer uniquement par des hypoglycémies de jeûne survenant souvent à l'occasion d'une infection intercurrente et caractérisées par l'absence de cétose associée. Le diagnostic peut être suspecté par la mise en évidence d'une excrétion caractéristique d'acides organiques dans les urines (chromatographie des acides organiques urinaires au moment de l'accès aigu) ou d'un profil caractéristique des acylcarnitines plasmatiques (recueil de sang sur papier buvard). Il est objectivé soit par l'étude in vitro de l'oxydation des acides gras marqués au carbone 14 ou au tritium sur lymphocytes ou sur fibroblastes en culture, soit sur la démonstration d'un déficit enzymatique lymphocytaire ou fibroblastique spécifique. Dans tous les cas, la conservation de prélèvements sanguins et urinaires au moment de l'accès aigu est indispensable.

- *Déficits de la chaîne respiratoire mitochondriale* : le déficit hépatique peut être une cause rare d'hypoglycémie avec hyperlactacidémie. Le diagnostic est souvent difficile à affirmer et repose sur les études biochimiques (polarographie et spectrophotométrie de la chaîne respiratoire mitochondriale) sur biopsie de foie et/ou de muscle.

## ■ V. ORIENTATION DU DIAGNOSTIC D'UNE HYPERLACTACIDÉMIE

---

Dans des conditions physiologiques, les concentrations plasmatiques du lactate et du pyruvate sont précisément régulées en fonction de l'équilibre entre leur production et leur utilisation. La mesure de ces composés nécessite des conditions de prélèvements, de conservation des échantillons et d'analyse très rigoureuses pour éviter les nombreuses causes d'erreur de ces mesures, parfois difficiles à éviter notamment chez le jeune enfant (anoxie, difficultés de prélèvement...). À noter que les hyperlactacidémies vraies peuvent parfois être différenciées de fausses hyperlactacidémies liées à des difficultés de prélèvement par l'existence d'une hyperlactaturie et/ou d'une hyperlactatorachie, moins sensibles aux conditions de prélèvements. Dans tous les cas, l'interprétation des résultats de ces mesures nécessite de se référer à des normes.

Lactate et pyruvate sont des composés physiologiques normaux produits dans le cytoplasme cellulaire par la glycolyse. Certains tissus ont un métabolisme énergétique essentiellement glycolytique et sont producteurs de lactate. Le lactate circulant provient essentiellement de la peau (30 %), des globules rouges (30 %), du cerveau (16 %) et des muscles (16 %). La consommation de lactate est essentiellement liée à son utilisation par l'oxydation mitochondriale dans le cœur, les muscles et les reins, et à sa consommation par le foie pour la néoglucogénèse au cours du jeûne. Le rapport entre lactate et pyruvate est principalement dépendant de l'état d'oxydo-réduction dans la cellule et du rapport NADH/NAD<sup>+</sup>.

Le lactate s'accumule dans de nombreuses circonstances pathologiques qui peuvent rendre très difficile l'affirmation du caractère primitif ou secondaire d'une hyperlactacidémie. Les causes les plus fréquentes des hyperlactacidémies secondaires sont :

- insuffisance cardiaque et états de collapsus
- anoxies généralisées ou localisées
- états septiques sévères
- hypoxie centrale ou périphérique
- hyperventilation
- convulsions
- diarrhées sévères et déshydratations
- insuffisance hépatique grave
- infections urinaires



À noter que la plupart des causes d'hyperlactacidémies primitives s'accompagnent d'une cétose anormale. Par contre le niveau de l'hyperlactacidémie n'est en rien un élément discriminant de son caractère primitif ou secondaire. Les principales causes d'hyperlactacidémies primitives peuvent être rangées dans 4 groupes étiologiques :

- les glycoséses
- les déficits de néoglucogénèse
- les anomalies de l'oxydation du pyruvate (PDH) ou du cycle de Krebs
- les déficits primitifs de la chaîne respiratoire mitochondriale

Un élément essentiel du diagnostic est le moment de survenue de l'hyperlactacidémie et son évolution par rapport à l'alimentation. Dans les déficits de néoglucogénèse (principalement les déficits en glucose-6-phosphatase et en fructose-1,6-bisphosphatase) la lactacidémie est à son plus haut à l'état de jeûne, au moment où la glycémie est la plus basse. L'hyperlactacidémie peut être considérable et dépasser 10 mol/l. Dans les glycoséses par déficit en enzyme débranchante, en phosphorylase ou phosphorylase kinase, comme dans les déficits en glycogène synthase, la lactacidémie est au contraire augmentée principalement, voire uniquement, en période post-prandiale, quand le patient reçoit une alimentation riche en glucides source d'une augmentation de production de pyruvate par la glycolyse. Dans ces déficits, la lactacidémie est au contraire normale quand le patient est à jeun ou lors des hypoglycémies. L'hyperlactacidémie est en règle modérée et ne dépasse pas 6 mol/l. Le déficit en pyruvate carboxylase entraîne une hyperlactacidémie souvent très importante et permanente, à jeun et à l'état nourri, bien que la lactacidémie puisse avoir tendance à diminuer au jeûne



court. Les déficits en pyruvate déshydrogénase (PDH), les déficits du cycle de Krebs (alpha-cétoglutarate déshydrogénase et fumarase) et les déficits de la chaîne respiratoire entraînent un défaut de consommation du pyruvate et une hyperlactacidémie qui se majore à l'état nourri. Cet horaire prédominant de l'hyperlactacidémie est toujours difficile à affirmer lorsque l'hyperlactacidémie est très importante ( $> 7$  mmol/l) car elle devient alors plus ou moins permanente. À l'inverse lorsque l'hyperlactacidémie est modérée, elle peut se normaliser totalement au jeûne d'où le risque de manquer le diagnostic si on ne réalise qu'un seul dosage le matin après une nuit de jeûne.

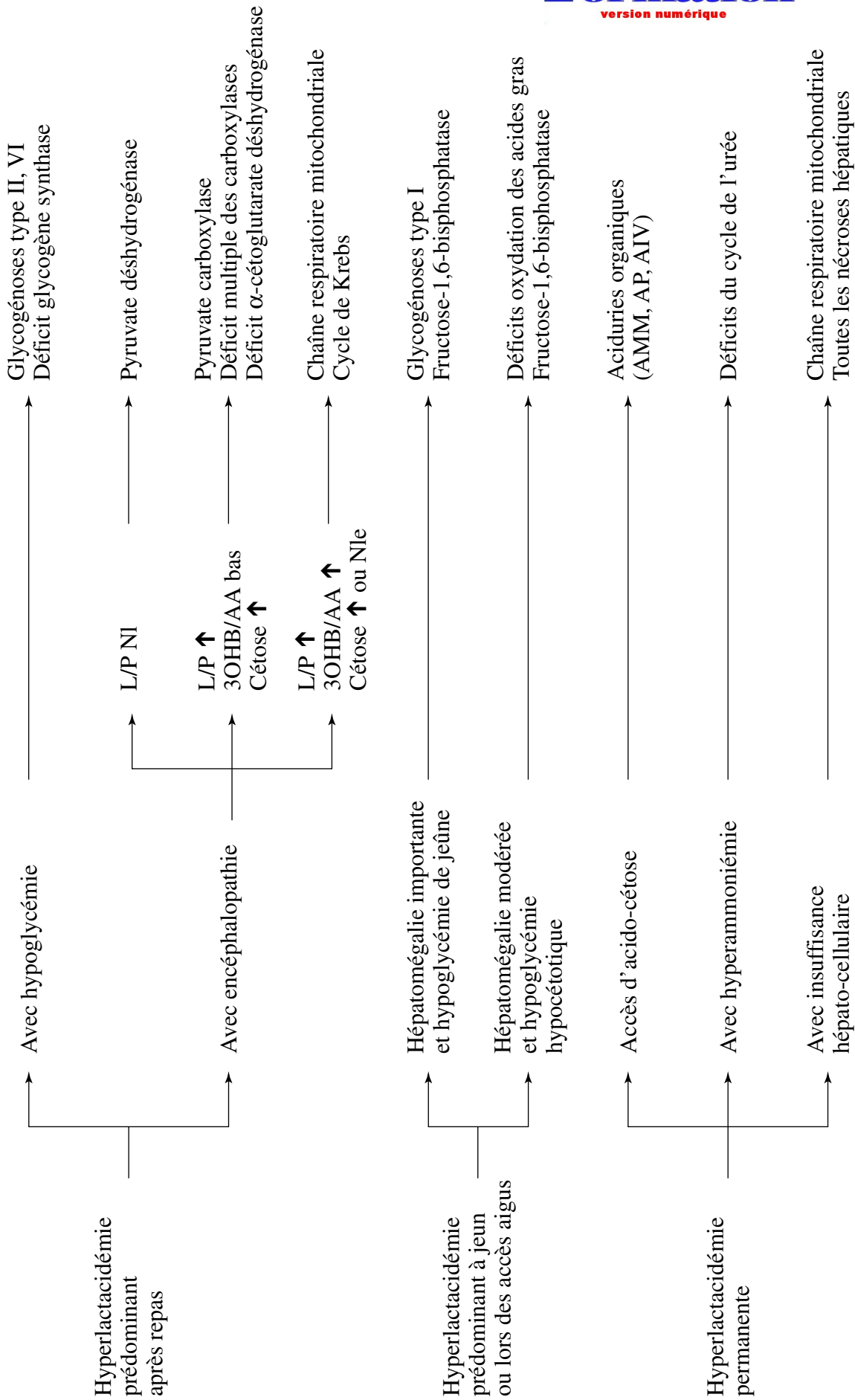
La détermination des rapports redox, rapport Lactate/Pyruvate (L/P) et rapport 3-OH-Butyrate/Acéto-Acétate (3OHB/AA), est le second élément clé du diagnostic des hyperlactacidémies. Ces paramètres doivent être mesurés simultanément avant et 1 heure après repas, en respectant des conditions très rigoureuses de prélèvement (sans garrot) et d'analyse. Ces prélèvements doivent être déprotéinisés immédiatement, tout délai entraînant une diminution du pyruvate et de l'AA et une fausse élévation de ces rapports. Ils reflètent indirectement l'état d'oxydo-réduction cytoplasmique (L/P) et mitochondrial (3OHB/AA) des cellules et permettent d'orienter le diagnostic des hyperlactacidémies congénitales primitives :

1/ un rapport L/P normal ou bas ( $< 10$ ) sans hypercétonémie est très en faveur d'un déficit en PDH qui entraîne une hyperlactacidémie souvent modérée et prédominant après les repas. Lorsque cette hyperlactacidémie est très modérée, des mesures de lactate après charge en fructose peuvent être utiles. À l'inverse lorsque la lactacidémie est élevée, une épreuve de charge en dichloroacétate (ou 2-chloropropionate) qui active la PDH constitue un test intéressant à visée diagnostique et thérapeutique.

2/ un rapport L/P très élevé ( $> 30$ ) associé à une hypercétonémie paradoxale post-prandiale et à un rapport 3OHB/AA normal ou bas ( $< 1,5$ ), est un profil métabolique rare et quasi spécifique d'un déficit en pyruvate carboxylase ou en  $\alpha$ -cétoglutarate déshydrogénase. La chromatographie des acides organiques urinaires permettra de différencier ces 2 déficits (présence ou non d'un pic importante d'alpha-cétoglutarate) et en cas de déficit en PC de différencier un déficit isolé ou un déficit multiple des carboxylases (présence de propionylglycine, de 3 méthylcrotonylglycine, de tiglylglycine, et de  $\beta$ -hydroxyisovalérate) en rapport avec un déficit en biotinidase ou en holocarboxylase synthétase.

3/ une augmentation simultanée des rapports L/P et 3OHB/AA, associée à une hyperlactacidémie, et éventuellement associée à une hypercétonémie paradoxale post-prandiale, est évocatrice d'un déficit de la chaîne respiratoire mitochondriale.

Cependant, il faut rappeler que la seule élévation du rapport L/P n'est en elle-même absolument pas significative et se voit notamment dans toutes les causes d'anoxie, et la majorité des situations d'hyperlactacidémies secondaires. La mesure du lactate dans le LCR peut être utile. Dans certains cas, des anomalies modérées peuvent faire discuter d'un test de charge en glucose ou d'une épreuve d'effort qui peuvent permettre de majorer ces anomalies, mais qui sont d'une part dangereuses, d'autre part de réalisation et d'interprétation très délicates et ne doivent être réalisées qu'en milieu très spécialisé. Rappelons que ces tests n'ont aucune utilité lorsqu'il existe une hyperlactacidémie franche ( $> 5$  mmol/l) à l'état de base.



L = Lactate, P = Pyruvate, 3OHB = 3-hydroxy-Butyrate, AA = Acéto-acétate, AMM = Acidémie Méthylmalonique, AP = Acidémie Propionique, AIV = Acidémie Isovalérique.

**Figure 5 – Diagnostic étiologique d'une hyperlactacidémie**

## ■ VI. ORIENTATION DU DIAGNOSTIC D'UNE HYPERAMMONIÉMIE

---

### VI.1- Définition

L'hyperammonémie peut être définie par une valeur  $>50 \mu\text{mol/l}$ . Ce dosage est particulièrement délicat et de nombreuses causes d'erreurs liées au prélèvement (hémolyse) à la conservation du prélèvement, ou erreur de dosage proprement dites doivent être éliminées avant d'affirmer la réalité de l'hyperammonémie.. Le diagnostic étiologique d'une hyperammonémie nécessite de différencier les hyperammonémies secondaires des hyperammonémies primitives par déficit du cycle de l'urée.

### VI.2- Le cycle de l'urée

Le cycle de l'urée met en jeu 6 enzymes permettant l'élimination sous forme d'urée de l'azote produit par le catabolisme des protides et transporté par l'ammoniaque. Si d'autres organes (rein, intestin) jouent un rôle important dans ce métabolisme, seul le foie possède les 6 enzymes nécessaires à ce cycle qui constitue la seule voie d'élimination de l'azote. Les déficits des 3 premières étapes mitochondriales [N-acétylglutamate synthase (NAGS), Carbamyl-phosphate synthétase (CPS), Ornithine carbamylphosphate transférase (OCT)] n'entraînent pas d'accumulation des acides aminés participant au cycle de l'urée. Les déficits des 3 enzymes cytosoliques entraînent l'accumulation des acides aminés situés en amont du bloc enzymatique : Argininosuccinate synthétase (AAS) dont le déficit entraîne une accumulation de citrulline (Citrullinémie), Argininosuccinate lyase (ASL) dont le déficit entraîne l'apparition d'acide arginino-succinique, Arginase dont le déficit entraîne l'accumulation d'arginine (Hyperargininémie).

À ces enzymes, il faut associer 2 transporteurs membranaires dont le déficit peut également être responsable d'une hyperammonémie : le transporteur intra-mitochondrial de l'ornithine dont le déficit est responsable du syndrome HHH (Hyperornithinémie-Homocitrullinémie-Hyperammonémie) et le transporteur des acides aminés dibasiques (ornithine, arginine, lysine) dont le déficit est à l'origine de l'intolérance aux protéines avec lysinurie (LPI).

### VI.3- Signes cliniques

Les hyperammonémies primitives ont 2 modes de présentation :

1) Des détresses néonatales dramatiques. L'enfant apparaît normal à la naissance. Après un intervalle libre de 24 à 72 heures apparaissent :

- des troubles de la conscience, allant de la somnolence jusqu'au coma
- une succion faible puis un refus de boire, associés à des vomissements
- une hypotonie axiale contrastant souvent avec une hypertonie des membres
- des mouvements anormaux ou des convulsions

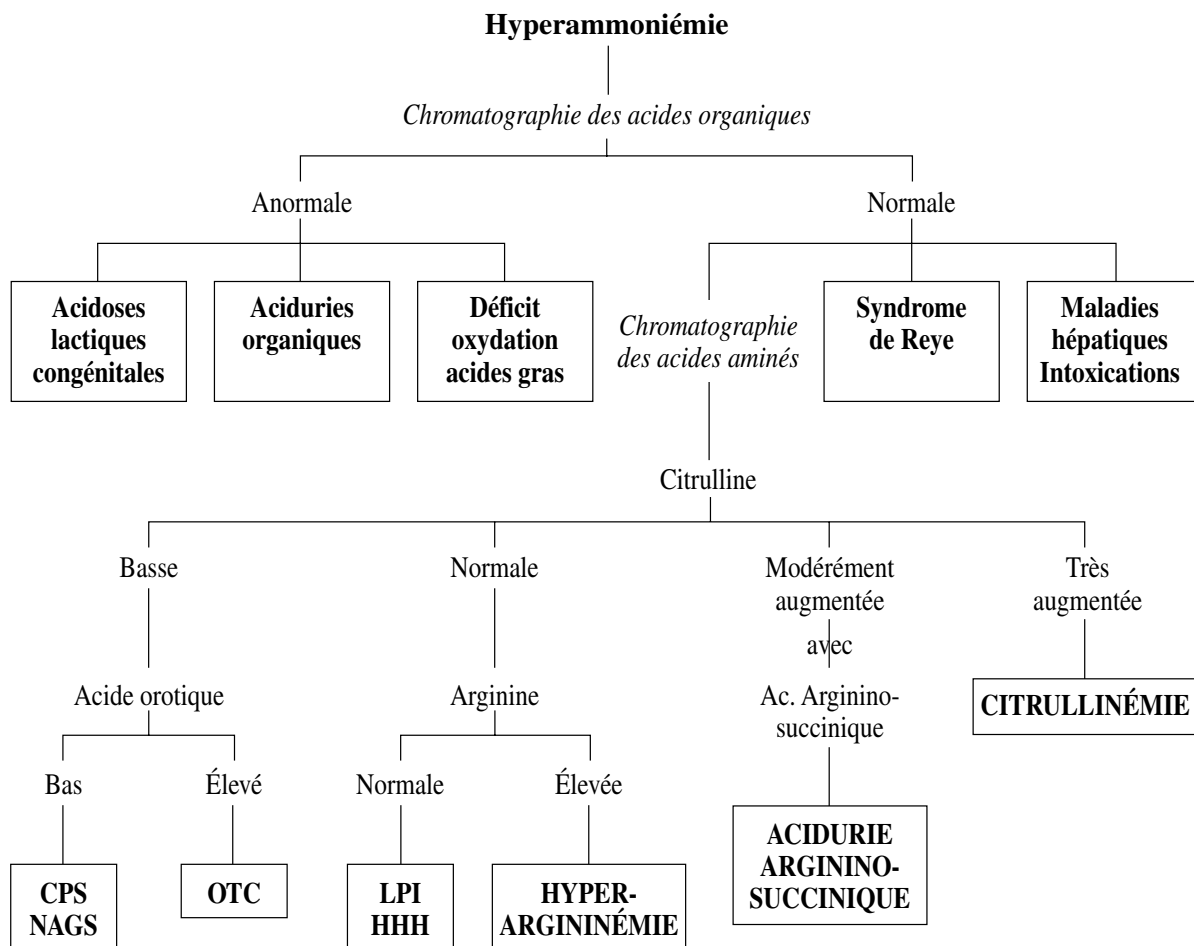
L'EEG montre des ondes lentes diffuses, des ondes delta et thêta, parfois un aspect de « suppression burst ». L'imagerie cérébrale montre un œdème cérébral, parfois des hypodensités de la substance blanche, des hémorragies intra-craniennes.

2) Formes tardives : un grand nombre de patients vont se révéler plus tardivement dans l'enfance, voire à l'âge adulte :

- soit par des manifestations aiguës spontanées ou déclenchées par une ingestion de protéines ou par un catabolisme secondaire à une maladie intercurrente : vomissements, ataxie aiguë, céphalées, troubles de conscience sont des manifestations habituelles. Le diagnostic peut être difficile devant des manifestations pseudo-psychiatriques : états confusionnels, hallucinations, troubles du comportement, ou devant des manifestations neurologiques : dysarthrie, syndrome pyramidal, dégradation neurologique aiguë...
- soit par une évolution plus chronique : anorexie avec parfois dégoût spontané pour les protéines, mauvaise croissance, retard mental souvent au premier plan.

#### VI.4- Diagnostic

Dans les formes néonatales, l'hyperammoniémie est souvent considérable et la conduite diagnostique est résumée dans l'algorithme (figure 6).



CPS = Déficit en carbamyl-phosphate synthétase, NAGS = Déficit en N-acétylglutamate synthase, OCT = Déficit en ornithine carbamyl-phosphate transférase, LPI = Intolérance aux protéines avec lysinurie, HHH = Syndrome hyperammoniémie-hyperornithinémie-homocitrullinémie.

Figure 6 – Diagnostic étiologique d'une hyperammoniémie

Dans les formes tardives, le diagnostic peut être difficile. L'ammoniémie peut se normaliser rapidement après un épisode aigu, spontanément ou après des traitements non spécifiques. Des antécédents familiaux, le lien des accès aigus avec des ingestats excessifs de protides ou des infections, l'association de troubles neurologiques et de troubles digestifs, doivent faire doser l'ammoniémie et rechercher des anomalies de la chromatographie des acides aminés et de l'acide orotique. Dans les formes tardives du déficit en OTC, des charges en protides, aiguës ou chroniques, peuvent être nécessaires au diagnostic. Ces épreuves sont dangereuses et ne doivent être réalisées qu'en milieu très spécialisé.

## RÉFÉRENCES

BRUSILOW S.W., MAESTRI N.E. Urea cycle disorders: diagnosis, pathophysiology, and therapy. *Adv. Pediatr.* 1996 ; 43 : 127-170.

FERNANDES J., SAUDUBRAY J.M., VAN DEN BERGHE G. Inborn metabolic diseases. Diagnosis and treatment. Springer Berlin, Heidelberg, New York, 3<sup>rd</sup> ed. 2000 : 467 p.

MAIRE I., BAUSSAN C., MOATTI N. et al. Biochemical diagnosis of hepatic glycogen storage diseases: 20 years French experience. *Clin Biochem* 1991 ; 24 : 169-178.

POGGI-TRAVERT F., MARTIN D., BILLETTE DE VILLEMEUR T. et al. Metabolic intermediates in lactic acidosis: compounds, samples and interpretation. *J. Inher. Metab. Dis.* 1996 ; 19 : 478-488.

BÜHRDEL P., BÖHME H.J., DIDT L. Biochemical and clinical observations in four patients with fructose 1-6 diphosphatase deficiency. *Eur J Pediatr* 1990 ; 149 : 574-576.

SAUDUBRAY J.M., MARTIN D., POGGI-TRAVERT F. et al. Clinical presentations of inherited mitochondrial fatty acid oxidation disorders. *International Pediatrics* 1997 ; 12 : 34-40.

SCRIVER C.R., BEAUDET A.L., SLY W.S., VALLE D. The metabolic & molecular bases of inherited disease, 8th ed., New York, McGraw-Hill Companies, 2001 ; 6 338 p.

TOUATI G., RIGAL O., LOMBÈS A. et al. In vivo functional investigations of lactic acid in patients with respiratory chain disorders. *Arch. Dis. Child.* 1997 ; 76 : 16-21.

TOUATI G., SAUDUBRAY J.M. Hypoglycémies de l'enfant. *Encycl. Méd. Chir. (Editions Scientifiques et Médicales Elsevier SAS), Pédiatrie*, 4-059-F-10, 2000 ; 11 p.

Seuls seront étudiés ici les examens biochimiques cités dans le texte précédent (G Touati : Maladies métaboliques). Ils peuvent être séparés en 3 groupes (a) les tests de dépistage rapide (b) les examens spécialisés de diagnostic, ceux qui permettent de poser ou de suspecter fortement un diagnostic (c) les examens spécialisés de confirmation : activités enzymatiques, analyse moléculaire de gènes.

## ■ I. LES TESTS RAPIDES DE DÉPISTAGE

---

### I.1- La réaction à la dinitrophénylhydrazine ou DNPH

La solution de 2,4 dinitrophénylhydrazine dans l'acide chlorhydrique est un réactif classique des acides alpha-cétoniques. Les cétoacides des acides aminés à chaîne ramifiée (leucine, isoleucine, valine) peuvent ainsi donner avec le réactif DNPH une coloration jaune (sous forme d'un précipité) à l'urine lorsqu'ils sont éliminés en abondance. Ce test permet donc de détecter une leucinose ou maladie des urines à odeur de sirop d'érable (blocage du catabolisme normal des acides aminés à chaîne ramifiée). Une protéinurie abondante peut constituer une cause d'erreur. Ce test est de moins en moins utilisé.

### I.2- Le sulfitest

Des bandelettes de détection rapide des sulfites sont utilisés dans l'industrie agro-alimentaire. (sulfitest Merck) Avec ces bandelettes il est ainsi possible de détecter en moins d'une minute la présence anormale de sulfites dans les urines : celle-ci est observée dans les déficits en sulfite oxydase (enzyme à coenzyme molybdène), redoutable maladie du catabolisme de la cystéine. La recherche de sulfites dans l'urine nécessite l'utilisation d'une urine fraîchement émise en raison de l'oxydation spontanée très rapide des sulfites en sulfates.

## II. LES EXAMENS SPÉCIALISÉS DE DIAGNOSTIC

---

### II.1- Le dosage des acides aminés dans le plasma

Il faut utiliser un plasma hépariné (1 ml environ) et non un sérum (libération d'acides aminés des éléments figurés du sang au cours de la coagulation). Le plasma peut voyager congelé ; mais il faut savoir que pour le dosage d'homocystine et de sulfocystéine la déprotéinisation doit être la plus précoce possible (par l'acide sulfosalicylique à la concentration finale de 50 mg/ml). La méthode de référence est la séparation par chromatographie liquide sur résines échangeuse d'ions avec coloration par la ninhydrine à chaud en sortie de colonne et lecture spectrophotométrique à 570 nm ou 440 nm (pour proline et hydroxyproline). Une méthode de chromato-

graphie monodimensionnelle sur plaque peut être utilisé si on ne dispose pas de l'appareillage automatique nécessaire à l'analyse chromatographique sur colonne. La chromatographie en phase gazeuse de dérivés volatils des acides aminés peut également être utilisée.

Les principales indications du dosage des acides aminés plasmatiques sont

- le suivi thérapeutique de maladies héréditaires du catabolisme des acides aminés.
- les hyperammoniémies
- l'un des tableaux cliniques décrits ci-dessous

*Présence d'un acide aminé inhabituel*

Acides Aminés	Maladie et principaux signes cliniques
Acide Argininosuccinique	<u>Acidurie argininosuccinique</u> Coma avec convulsions Hyperammoniémie
Sulfocystéine	<u>Déficit en sulfite oxydase</u> Retard mental, luxation du cristallin, convulsions.
Acide pipécolique	<u>Maladies peroxysomiales</u> (syndrome de Zellweger, Refsum infantile, adrénoleucodystrophie néonatale)
Homocystine	<u>Homocystinurie classique</u> Anomalies squelettiques, ostéoporose, thromboses, luxation du cristallin : associée à une hyperméthioninémie <u>Homocystinurie par déficit en méthylène THF réductase</u> Retard de développement, retard mental, thromboses

*Augmentation d'un ou de plusieurs acides aminés*

Acide Aminés	Maladie
Phénylalanine	<u>Phénylcétonurie classique</u> Retard mental avec souvent vomissement
Tyrosine	<u>Tyrosinémie Type I</u> Atteinte hépatique aigüe ou chronique (cirrhose), syndrome de Fanconi, cancer hépatique <u>Tyrosinémie Type II</u> ou oculo-cutanée, lésions (kératite) oculaires et cutanées
Acides aminés ramifiés (leucine, isoleucine, valine) + alloisoleucine	<u>Leucinose</u> Coma avec convulsions en période néonatale dans la forme classique, avec acidose métabolique
Glycine	<u>Hyperglycinémie sans cétose</u> Convulsions, hypotonie, anomalie de l'EEG en période néonatale, associée à hyperglycinorachie
Arginine	<u>Déficit en arginase</u> Tétraplégie spastique, convulsions microcéphalie
Citrulline	<u>Citrullinémie</u> Coma, convulsions, hyperammoniémie
Ornithine	<u>Atrophie gyrée de la rétine</u> Perte progressive de la vision <u>Triple H</u> Associée à hyperammoniémie et hyperhomocitrullinurie, léthargie (coma) retard mental, convulsions
Proline	<u>Hyperprolinémie Type II</u> Retard mental, convulsions.

Il faut aussi noter que plusieurs déficits enzymatiques n'ont aucune traduction clinique et c'est ainsi que l'on peut observer des histidinémies, des cystathioninuries, des hyperlysinémies familiales, des hyperhydroxyprolinémies, des sarcosinémies et certaines hyperprolinémies en dehors de toute anomalie clinique : on les désigne parfois comme « non-maladies ».

Citrulline, Ornithine, Arginine	<p><u>Déficit en carbamyl phosphate synthétase</u> Hyperammoniémie Troubles de la conscience avec coma Acide orotique urinaire normal</p> <p><u>Déficit en ornithine transcarbamylase</u> Hyperammoniémie Élévation de l'acide orotique urinaire</p>
Citrulline, Ornithine, Arginine, Proline	<p><u>Déficit en Pyrroline 5 carboxylate synthétase</u> Retard mental, lésions ostéoarticulaires, hyperammoniémie modérée corrigée par les repas.</p>

Le tableau 1 montre à titre indicatif les concentrations plasmatiques normales des acides aminés chez un nouveau né.

*Tableau 1 - Concentrations plasmatiques des acides aminés chez le nouveau né.*

	Moyenne ± écart type (µmoles/l)		Moyenne ± écart type (µmoles/l)
Taurine	100 ± 70	Acide 2- amino butyrique	15 ± 9
Acide aspartique	13 ± 8	Valine	197 ± 52
Hydroxyproline	38 ± 11	Cystine (1/2)	83 ± 22
Thréonine	128 ± 39	Méthionine	29 ± 6
Sérine	135 ± 28	Isoleucine	60 ± 20
Asparagine	50 ± 11	Leucine	115 ± 36
Acide glutamique	155 ± 82	Tyrosine	79 ± 27
Glutamine	508 ± 126	Phénylalanine	55 ± 10
Proline	191 ± 42	Ornithine	88 ± 33
Glycine	240 ± 51	Lysine	176 ± 35
Alanine	282 ± 49	Histidine	76 ± 15
Citrulline	20 ± 8	Arginine	63 ± 14

## II.2- Le dosage des acides aminés dans l'urine

Effectué sur la première miction matinale, les résultats sont exprimés en µmoles/mmele créatinine. Le plus souvent ce dosage est inutile pour le diagnostic des aminoacidopathies. Font exception à cette règle.

- l'intolérance aux protéines basiques : hyperammoniémie, vomissements, diarrhée, fibrose pulmonaire, insuffisance respiratoire : hypolysinémie ; excrétion massive de lysine dans l'urine ainsi que ornithine et arginine.

- La cystinurie : maladie du transport des acides aminés avec calculs urinaires constitués essentiellement de cystine, lysine ornithine. Des modifications de l'acidoacidurie peuvent être observées dans des tubulopathies caractérisées par un syndrome de Fanconi (hyperphosphaturie, hyperaminoacidurie généralisée).

## II.3- Le dosage des acides aminés dans le liquide céphalorachidien

La seule indication de ce dosage est l'hyperglycinémie sans cétose, due à un déficit en glycine oxydase. L'hyperglycinémie et l'hyperglycinurie doivent en effet être confirmés par l'hyperglycinorachie.



## II.4- Le dosage des acides organiques urinaires

On utilise le plus souvent la première miction matinale, correspondant à l'urine formée au cours de la nuit et les résultats sont exprimés en  $\mu\text{moles}/\text{mmoles}$  de créatinine. Les acides organiques sont purifiés, le plus souvent par extraction en milieu acide par de l'acétate d'éthyle. Après séchage le résidu sec est soumis à un traitement chimique nécessaire à la transformation des acides organiques extraits en dérivés volatils (esters méthyliques, dérivés triméthylsilylés). L'analyse proprement dite est effectuée avec un chromatographe en phase gazeuse, de préférence couplé à un spectromètre de masse. Les aciduries organiques sont liées à une anomalie du métabolisme des acides aminés ou de l'oxydation des acides gras ( $\beta$  oxydation mitochondriale ou peroxysomiale, oméga oxydation dans le réticulum endoplasmique avec formation d'acides dicarboxyliques).

Anomalie du métabolisme de	Maladie	Produit retrouvé dans l'urine
Tyrosine	Alcaptonurie	Acide homogentisique
	Tyrosinémie Type I	Succinyl acétone Acide 4-hydroxypyruvique
Leucine	Acidémie isovalérique	Acide isovalérique (et dérivé 3-hydroxy).
	Acidémie propionique	Acide méthylcitrique Acide 3-hydroxypropionique Propionyl glycine
Valine Isoleucine Thréonine	Acidémie Propionique	Acide méthylcitrique Acide 3-hydroxypropionique Acide méthylmalonique
Lysine	Acidurie Glutarique Type I	Acide glutarique Acide 3-hydroxyglutarique
	Acidémie 2-céto adipique	Acide 2- céto adipique ( et son dérivé 2-hydroxy) Acide glutarique
	Acidurie 3-Méthyl glutaconique	Acide 3-méthylglutaconique
	Acidurie 3-hydroxy 3-méthyl glutarique	Acide 3-hydroxy 3-méthylglutarique Acide 3-méthylglutaconique Acide 3-hydroxy isovalérique
Leucine	3-méthylcrotonyl-glycinurie	Acide 3-méthyl crotonylglycine Acide 3-hydroxyisovalérique
	Acidurie 4-hydroxybutyrique	Acide 4-hydroxybutyrique et dérivés divers
GABA	Acide pyroglutamique	Acidurie pyroglutamique
Glutathion	Acidurie N-méthylaspartique	Acide N-méthylaspartique
N-méthylaspartate	Déficit multiple en carboxylase ou en biotine	Associé les signes d'acidémie propionique et d'acidurie 3-méthylcrotonique
Les substrats des carboxylases	Déficit en deshydrogénase des acyl CoA à chaîne moyenne (MCAD)	Acides dicarboxyliques + dérivés glycine de ces acides dicarboxyliques
Acides gras à chaîne moyenne	Déficit en deshydrogénase des acyl CoA à longue chaîne	Acides dicarboxyliques et dérivés glycine de ces acides
Acides gras à longue chaîne	Acidurie glutarique Type II	Très nombreux acides dicarboxyliques et monocarboxyliques et leurs dérivés glycine
Acides gras	Déficit mévalonate kinase	Acide mévalonique
Synthèse du cholestérol	Hyperoxalurie Type I	Acide glycolique Acide glyoxylique Acide oxalique
Catabolisme peroxysomial du glyoxylate		

Encore plus rare : le déficit en fumarase (élimination : acide fumarique), le déficit en glycérol kinase (élimination de glycérol), déficit en pyrimidine deshydrogénase (élimination, thymine et uracile), déficit en deshydrogénase des acyl CoA à chaîne courte (élimination : acide éthylmalonique, acide 2 méthylsuccinique, butyrylglycine) et enfin déficit en 2-méthylacétoacétyl CoA thiolase.

Il faut noter que les acides organiques peuvent donner des dérivés de condensation avec la glycine (ex : isovalérylglycine, suberylglycine, tiglylglycine) ou avec la carnitine (voir ci-dessous).

## II.5- Acylcarnitine

Les acides gras mobilisables à partir de la masse grasseuse sont essentiellement des acides gras à longue chaîne qui seront oxydés dans les mitochondries hépatiques ou des muscles squelettiques et cardiaques grâce au mécanisme de la bêta oxydation. A l'opposé des acides gras à chaîne moyenne qui peuvent entrer librement dans les mitochondries les acides gras à longue chaîne nécessitent la présence d'un transporteur, la carnitine pour former des acylcarnitines, à partir d'acyl CoA et de carnitine. La membrane mitochondriale interne n'est perméable qu'aux acyl-carnitine qui régénèrent des acyl-CoA à l'intérieur de la mitochondrie. Les enzymes nécessaires (carnitine palmitoyl transférase 1 et 2, acyl-carnitine translocase) peuvent travailler dans les 2 sens et dans les anomalies de la bêta oxydation, les acyl-CoA non utilisés peuvent former des acyl-carnitines exportables hors de la mitochondrie. Il est possible de déterminer le profil des acylcarnitines dans le plasma grâce à l'utilisation d'un spectromètre de masse en tandem (MS/MS). Les substances sont d'abord ionisées et séparées par le premier spectromètre de masse puis dans une chambre de collision se produit une fragmentation de ces substances : les fragments obtenus sont analysés par le second spectromètre de masse. Cette méthode est à la fois très sensible et très spécifique . Les prélèvements de sang peuvent être effectués sur papier buvard et les résultats sont obtenus très rapidement (environ 2 minutes par analyse).

*Le profil des acylcarnitines peut ainsi définir et localiser une anomalie enzymatique ou de transport des acides gras.*

Acylcarnitine	Anomalies
A chaîne longue (C16, C18 :1)	Déficit en translocase Déficit en carnitine palmitoyl transférase 2 (CPT2)
En C14 : 1	Déficit en VLCAD (Very Long Chain acyl CoA dehydrogenase)
Dérivés 3-hydroxy des chaînes longues	Déficit en longue chaîne hydroxy acyl-CoA deshydrogenase (LCHAD) Déficit en enzyme trifonctionnel mitochondrial
A chaîne moyenne (C8, C10 : 1)	Déficit en acyl-CoA deshydrogenase à chaîne moyenne (MCAD)
A chaîne courte et moyenne (C4, isoC5, C8 à C12)	Déficit multiple en acylCoAdeshydrogénases

## II.6- Détermination des points redox

On donne ce nom à la détermination simultanée dans le sang des carburants énergétiques : glucose, lactate, pyruvate, 3-hydroxybutyrate, acétoacétate, acides gras libres. On y associe à certains moments d'autres dosages : ammoniémie, acides aminés, carnitine totale et libre, acyl-carnitine et parfois un recueil des urines est également pratiqué pour une mesure des acides organiques urinaires et de la lactaturie. Les prélèvements sanguins doivent être effec-

tués sans garrot et déprotéinisés immédiatement par de l'acide perchlorique (sauf pour le glucose et les acides gras libres). Les surnageants de déprotéinisation doivent être conservés à + 4 °C pour lactate et pyruvate, à - 20 °C pour 3-hydroxybutyrate et acétoacétate. La détermination des points redox est effectuée dans diverses situations, la plus importante étant celle de la recherche de l'étiologie d'une hypoglycémie au cours d'une épreuve de jeûne. Dans ce cas il faut installer une voie veineuse et en l'absence d'indications cliniques sur la tolérance au jeûne, l'épreuve commence après un repas. Des prélèvements sont effectués à 0, 7, 15, 17 heures, puis toutes les heures jusqu'à 24 heures avec des glycémies déterminées en urgence et un contrôle clinique strict ce qui implique que l'épreuve de jeûne soit effectuée en milieu hospitalier. La glycémie s'abaisse normalement au cours du jeûne d'autant plus que le patient est plus jeune. La lactacidémie ne varie pas et les corps cétoniques augmentent chez un sujet normal. La concentration des acides gras libres s'élève proportionnellement à la somme des corps cétoniques (3-hydroxybutyrate + acétoacétate).

A 24 heures de jeûne le rapport acides gras libres / 3-hydroxybutyrate est proche de 1. Enfin l'alaninémie s'abaisse au cours du jeûne surtout chez les patients les plus jeunes. Diverses situations sont possibles :

- Augmentation des corps cétoniques au cours du jeûne

Lactacidémie normale

~ hypoglycémie récurrente avec cétose

~ déficit en hormones hyperglycémiantes ; les dosages hormonaux : glucagon, cortisol, hormone de croissance, catécholamines sont alors indispensables.

Lactacidémie élevée

~ déficit de la néoglucogenèse

- Absence d'augmentation des corps cétoniques.

Sans augmentation des acides gras libres : hyperinsulinisme.

Avec augmentation des acides gras libres : défaut de bêta oxydation des acides gras.

- Augmentation très importante des corps cétoniques

(sans hypoglycémie le plus souvent) avec rapport 3-OH butyrate/ Acides gras libres > 1 : déficit de la cétolyse

La charge en triglycérides est utilisée pour étudier les hypoglycémies hypocétonémiques dues à un déficit de la cétogénèse. Normalement une charge en triglycérides induit une cétogénèse. Après un jeûne physiologique (12 heures) on fait ingérer au sujet des triglycérides à chaîne longue (1,5 g/kg d'huile de tournesol) ou des triglycérides à chaîne moyenne (huile cères<sup>®</sup>). Les prélèvements sont effectués avant la charge et 30, 60 120 et 180 minutes après la charge ; on peut y associer un recueil d'urines de 3 heures avant la charge et un autre recueil de 3 heures après la charge pour dosage des acides organiques urinaires. Normalement on observe une élévation franche de la cétonémie (3-hydroxybutyrate + acétoacétate). L'hypocétonémie signe une anomalie de la bêta oxydation des acides gras dans les mitochondries.

La recherche d'une anomalie de la chaîne respiratoire.

Une hyperlactacidémie permanente au dessus de 2,5 mmole/l avec élévation du rapport lactate/pyruvate supérieure à 20 est très évocatrice d'une anomalie de la chaîne respira-

toire à localisation hépatique. On la distingue d'une anomalie de la pyruvate deshydrogénase caractérisée aussi par une hyperlactacidémie mais avec un rapport lactate/pyruvate normal. Une tubulopathie peut perturber l'expression de l'hyperlactacidémie d'où l'intérêt de la mesure de la lactacidurie qui permet de rétablir le diagnostic. Enfin le rapport 3-hydroxybutyrate/ acétoacétate augmente parallèlement à l'augmentation du rapport NADH/NAD<sup>+</sup> mitochondrial.

## II.7- Étude de la chaîne respiratoire

En dehors de la mesure des points redox (voir ci-dessus) les méthodes d'étude sont : biochimique, enzymatique, morphologique, biophysique et moléculaire.

Le tableau clinique observé définit le tissu qu'il convient d'étudier aussi bien pour les méthodes biochimiques que par les études enzymatiques. Si le tableau est celui d'une myopathie il faudra réaliser une biopsie musculaire, s'il s'agit d'une forme hématopoïétique on étudiera les lymphocytes et polynucléaires, s'il s'agit d'une hyperlactacidémie il faudra effectuer une ponction biopsie hépatique. Quelque soit le tissu utilisé il sera utile pour les méthodes biochimiques de purifier au moins partiellement les mitochondries. L'utilisation des fibroblastes en culture ou des lymphocytes transformés en lymphoblastes est le plus souvent insuffisamment informative.

\* La mesure de la consommation en oxygène des mitochondries intactes (polarographe avec électrode de Clark) en présence de différents substrats permet de localiser l'anomalie sur l'un des 5 complexes de la chaîne respiratoire mitochondriale : complexe I utilisant du NADH fourni par l'oxydation du glutamate, complexe II utilisant le FADH<sub>2</sub> fourni par l'oxydation du succinate ou anomalie de l'oxydation des 2 substrats, glutamate et succinate, dans les déficits des autres complexes (III, IV, V).

\* Les études enzymatiques ne nécessitent pas obligatoirement de purification mitochondriale et autorisent le transport à l'état congelé (à - 80 °C) des fragments tissulaires prélevés. Les dosages sont effectués en présence d'une concentration forte des substrats avec inhibition par des inhibiteurs spécifiques des complexes adjacents au complexe que l'on souhaite mesurer. Les résultats sont toujours très dispersés d'où l'utilisation fréquente de rapport d'activités (avec un autre enzyme mitochondrial, la citrate synthase).

Les résultats morphologiques sur biopsie musculaire consistent en une révélation histo-enzymatique des différents complexes de la chaîne respiratoire, la morphologie des mitochondries ; l'étude immuno-chimique de certaines protéines des complexes est également utilisée.

\* La spectrométrie de résonance magnétique est une méthode biophysique non invasive d'étude du métabolisme énergétique des muscles et du cerveau. Le spectre du phosphore 31 permet la mesure des concentrations relatives dans les muscles de : ATP, phosphocréatine, phosphate inorganique. Ces déterminations peuvent être réalisées au repos ou après exercice. Le spectre RMN du proton permet l'étude du métabolisme cérébral.

**Les études moléculaires** ont apporté des précieuses informations sur les déficits de la chaîne respiratoire. Les complexes I à V contiennent plus de 70 protéines différentes : seules 13 d'entre elles sont codées par l'ADN mitochondrial, les autres le sont par des gènes portés par l'ADN nucléaire. Tous les complexes sauf le II contiennent au moins une protéine codée par l'ADN mitochondrial. Les déficits des protéines à codage mitochondrial sont transmises

selon une loi non mendélienne : en effet l'hérédité est exclusivement maternelle, les femmes transmettant à leurs enfants mâles ou femelles des mitochondries anormales qui pourront se répartir inégalement dans les tissus expliquant ainsi que seuls certains tissus soient atteints dans les déficits de la chaîne respiratoire liés à une anomalie mitochondriale. Le pourcentage de mitochondries atteintes dans un tissu détermine la gravité des signes cliniques.

Les anomalies les plus fréquentes du génome mitochondrial sont indiquées ci-dessous.

Maladie	Complexe ou ARN de transfert atteint
LHON (Leber hereditary optical neuropathy) ou syndrome de Leber	Complexe I
NARP (neurogenic muscle weakness ataxia and retinitis pigmentosa)	Complexe V
MERRF (myoclonic epilepsy and ragged red muscle fibers)	ARN de transfert mitochondrial de la lysine
MELAS (mitochondrial encephalomyopathy lactic acidosis and stroke-like episode)	ARN de transfert mitochondrial de la leucine

D'autres syndromes plus rares sont liés à d'autres atteintes des ARN de transfert mitochondriaux (leucine, asparagine) ou d'ARN ribosomique mitochondrial.

### ■ III. LES EXAMENS SPÉCIALISÉS DE CONFIRMATION

#### III.1- Les dosages enzymatiques

Ils sont effectués pour confirmer un diagnostic et parfois pour préparer un éventuel diagnostic prénatal. Lorsque le déficit est généralisé à tous les tissus on utilisera comme échantillon des globules rouges (pour les enzymes cytosoliques) des polynucléaires ou des lymphocytes ( pour les enzymes mitochondriaux, lysosomiaux ou peroxysomiaux), très rarement le plasma (dosage de la biotinidase) et souvent des cellules en culture : fibroblastes, lymphoblastes, amniocytes.

Cependant le déficit enzymatique n'est parfois caractérisable que dans un tissu particulier : foie, reins, muqueuse duodénale, myocarde. Dans tous les cas se pose alors le problème de la réalisation du prélèvement (ponction, biopsie hépatique, ponction biopsie rénale, biopsie duodénale) et de son transport, le plus souvent congelé dans l'azote liquide ou à  $-20^{\circ}\text{C}$  (carboglace). Chaque dosage représente un cas d'espèce et nécessite un accord entre clinicien et biologiste, ce dernier fixant les modalités et les conditions du transport.

La réalisation des dosages eux même n'est pas identique à celle des dosages d'enzymes sériques effectués par exemple pour le diagnostic d'infarctus du myocarde (aminotransférases, créatine phosphokinase). Pour les enzymes sériques citées ci-dessus seule compte la quantité d'enzyme produite par l'ischémie ou la nécrose myocardique : les dosages sont dans ce cas effectués en présence d'un excès de substrat et alors la vitesse mesurée est donnée par l'équation de Michaelis-Menten

$$\text{Vitesse} = V_{\text{maximum}} \cdot \frac{[\text{Substrat}]}{[\text{Substrat}] + [\text{Constante de Michaelis}]}$$

Si le substrat est en excès la vitesse est peu différente de V maximum, c'est à dire proportionnelle à la quantité d'enzyme.

Lorsque l'on recherche un déficit de l'activité d'un enzyme il faut savoir que le déficit peut être quantitatif ou bien qualitatif (augmentation de la Km, la constante de Michaelis). Il

est donc indispensable d'utiliser une concentration en substrat faible, proche de la constante de Michaelis ce qui permettra d'objectiver un déficit qui disparaîtrait si on utilisait une concentration très forte (dite saturante) en substrat.

Si l'enzyme que l'on souhaite doser est particulièrement labile il faudra toujours procéder au dosage d'un enzyme témoin de même labilité ou de labilité plus forte, voire même doser l'enzyme dans un tissu témoin provenant d'un sujet sain.

Enfin si le tableau clinique est en faveur d'un déficit enzymatique et que l'enzyme est normal *in vitro* il faut s'interroger :

\* Sur l'existence *in vivo* d'une anomalie de transport du substrat (exemple glycogénose de type Ib : l'enzyme glucose 6-phosphatase est normale *in vitro* alors que le tableau clinique évoque fortement son déficit en raison d'un déficit de transporteur du glucose 6-phosphate à l'intérieur du réticulum endoplasmique dans lequel siège l'enzyme).

\* Sur l'existence d'une localisation anormale de l'enzyme (exemple l'alanine glyoxylate aminotransférase, enzyme peroxysomal est normale *in vitro* alors qu'existe une oxalose authentique ; l'anomalie porte sur l'entrée de l'enzyme dans le peroxysome : l'enzyme reste anormalement dans le cytosol et est bien sur pleinement active *in vitro* mais totalement inactive *in vivo*).

### III.2- Les analyses moléculaires

– La recherche d'une délétion d'une partie d'un gène : c'est la méthode du Southern-blot qui permet ce type de détection. Par exemple la recherche d'une délétion de l'ADN mitochondrial à l'origine de déficit dans la chaîne respiratoire s'effectue par électrophorèse sur gel d'agarose après coupure par une enzyme de restriction de l'ADN isolé des mitochondries. Après transfert sur un filtre de cellulose, on procède à une hybridation avec une sonde radioactive (ou marquée par un marquage non radioactif). S'il existe une hétéroplasmie (présence de mitochondries normales et anormales) on observe 2 bandes, la normale à 16,1 kb et une plus courte. L'importance respective des 2 bandes mesure le degré d'hétéroplasmie ; l'emplacement de la seconde bande fournit la taille de la délétion.

– La recherche d'une mutation préalablement identifiée. C'est le cas le plus simple : il suffit de réaliser une amplification de la zone d'intérêt par une PCR et d'étudier le produit formé : par exemple dans le cas de la drépanocytose, digestion enzymatique par une enzyme de restriction spécifique de la zone de mutation. L'enzyme Dde I coupe le produit de PCR chez un individu normal et ne coupe pas si une mutation du codon 6 de la chaîne  $\beta$  de l'hémoglobine induit la drépanocytose. Une électrophorèse sur gel d'agarose permet de détecter une seule bande en position normale ou anormale (sujet homozygote) ou bien 2 bandes chez l'hétérozygote. Si la mutation ne provoque pas de disparition d'un site de restriction, elle peut parfois en faire apparaître un nouveau. Si la mutation ne modifie aucun site de restriction il est possible d'effectuer la PCR en utilisant des oligodésoxynucléotides modifiés de telle façon que le produit d'amplification devienne accessible à une digestion enzymatique soit uniquement en présence de l'allèle normal, soit uniquement en présence de l'allèle muté (méthode ACRS pour allele created restriction site).

D'autres méthodes permettent la détection de mutations connues sans qu'il soit nécessaire d'effectuer une électrophorèse. On utilise une hybridation avec un oligodésoxynucléotide de synthèse, portant ou non la mutation, sur un produit PCR : on utilise dans ces cas des dépôts sur membrane du produit de PCR encadrant la zone d'ADN à tester puis on

effectue l'hybridation d'où le nom de dot-blot : cette méthode est très utilisée : mucoviscidose, déficit en 21 $\beta$  hydroxylase, drépanocytose, déficit en alpha 1-antitrypsine etc... elle porte le nom de méthode ASO pour allele spécifique oligonucléotide.

Dans la méthode dite de reverse-blot des oligodésoxynucléotides de synthèse portant les différentes mutations connues d'un gène sont déposées sur une membrane et l'hybridation s'effectue avec différents produits de PCR obtenus simultanément avec des oligodésoxynucléotides adaptés (PCR multiplex). Cette méthode est très utilisée pour détecter les nombreuses mutations d'un même gène (mucoviscidose).

– La recherche d'une mutation encore non identifiée

Cette recherche est basée sur le fait que la migration de l'ADN sur un gel de polyacrylamide ou sur un support chromatographique dépend non seulement de sa longueur mais aussi de sa séquence. Dans la méthode SSCP (single strand conformation polymorphism) le produit de PCR est dénaturé et les simples brins soumis à électrophorèse pour obtenir une séparation entre la séquence mutée et la séquence normale. Cependant un résultat négatif ne permet pas d'affirmer l'absence de mutation car certaines substitutions nucléotidiques peuvent ne pas modifier la migration électrophorétique des brins d'ADN. Dans la méthode DHPLC (denaturing high performance liquid chromatography) la migration d'un homoduplex (dont les 2 brins ont des bases strictement complémentaires) est plus longue que celle d'un hétéroduplex ( dont les 2 brins diffèrent par une base ). Ces méthodes et d'autres (DGGE denaturing gradient gel électrophoresis par exemple) permettent de détecter une mutation et d'en obtenir la localisation sur le gène puisque plusieurs PCR sont habituellement réalisées sur l'étendue d'un gène. Le séquencage de la région portant la mutation est alors nécessaire pour définir avec précision le type de mutation. Enfin la découverte d'une mutation sur un gène n'implique pas obligatoirement une modification d'une activité biologique (enzymatique par exemple). Il est donc nécessaire d'aboutir à une étude de l'expression in vitro c'est à dire l'obtention à partir des ADN normaux ou mutés d'une protéine dont les propriétés peuvent être alors étudiées et caractérisées.

## BIBLIOGRAPHIE

HOMMES F.A. Techniques in Diagnosis Human Biochemical Genetics - A laboratory manual Wilcy-Liss Publ. New York 1991.

KAMOUN P. , FREJAVILLE J.P. Guide des examens de laboratoire - Flammarion Medecine Sciences Publ Paris 2002.

SCRIVER C.R., BEAUDET .V, SLY W.S , VALLE D. The metabolic and molecular bases of inherited disease - Mc Graw-Hill Publ New York 2001.

*Autres dosages ou épreuves utilisés dans les laboratoires spécialisés pour le diagnostic des maladies héréditaires du métabolisme*

Dosage	Méthode	Indications diagnostiques
Acide hippurique urinaire	Colorimétrie	Suivi des thérapeutiques par acide benzoïque des déficits du cycle de l'urée
Acide mévalonique urinaire	GC-MS	Déficit en mévalonate kinase classique ou avec syndrome de fièvre récurrente avec hypergammaglobulinémie D
Acide orotique urinaire	Colorimétrie	Déficits du cycle de l'urée ; Acidurie orotique
Acide phytanique	GC-MS	Maladies peroxysomiales
Acide pipécolique	GC-MS ou chromatographie liquide	Maladies peroxysomiales
Acides biliaires plasmatiques	GC-MS	Maladies peroxysomiales
Acides gras à très longue chaîne	GC-MS	Maladies peroxysomiales
Acides sialiques urinaires	Colorimétrie	Déficit en neuraminidase ; galactosialidose ; mucopolidose de type III
Adénine phosphoribosyl transférase érythrocytaire	Méthode isotopique	Déficit en adénine phosphoribosyl transférase
Adénosine désaminase érythrocytaire et lymphocytaire	Méthode isotopique	Déficit immunitaire combiné sévère Anémie de Blackfan-Diamond
Ammoniémie	Colorimétrie	Recherche d'un déficit primaire ou secondaire du cycle de l'urée.
Alpha 1- Antitrypsine sérique	Immunologique	Déficit en alpha1 antitrypsine
Carnitine plasmatique ou urinaire	Colorimétrie	Recherche d'un déficit systémique en carnitine
Céruleplasminémie sérique	Colorimétrie ou Immunonéphémétrie	Maladie de Wilson Maladie de Menkes Aceruloplasminémie
Charge en phényl propionate	GC-MS	Déficit en acyl CoA déshydrogénase spécifique des chaînes moyennes
Charge en triglycérides	Colorimétrie	Etude des déficits de la cétogénèse
Cuivre hépatique	Colorimétrie	Maladie de Wilson
Cuivre urinaire	Colorimétrie	Maladie de Wilson
Cycle d'ammoniémie	Colorimétrie	Recherche d'un déficit primaire ou secondaire du cycle de l'urée
Cycle glycémique	Colorimétrie	Exploration des hypoglycémies, hyperlactacidémies, hypercétonémies
Cystine leucocytaire	Méthode isotopique	Cystinose
Epreuve de charge en protides	Colorimétrie et chromatographie liquide	Recherche des déficits du cycle de l'urée ou des déficits du catabolisme des acides aminés ramifiés
Epreuve de jeûne	Colorimétrie	Explorations des hypoglycémies
Homocystéine plasmatique	Immunologique	Homocystinurie
Hyperglycémie provoquée par voie intraveineuse	Colorimétrie	Exploration d'une hyperlactacidémie
Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransférase érythrocytaire	Méthode isotopique	Maladie de Lesch-Nyhan
Mucopolysaccharides Urinaires	Colorimétrie	Diagnostic des Mucopolysaccharidoses
Oligosaccharides urinaires	Colorimétrie	Diagnostic des oligosaccharidoses
Oroticurie provoquée	Colorimétrie	Déficit en ornithine transcarbamylase
Phosphoéthanolamine urinaire	Chromatographie liquide	Hypophosphatasie
Plasmalogènes érythrocytaires	GC-MS	Maladies peroxysomiales
Purine nucléoside phosphorylase érythrocytaire	Méthode isotopique	Déficit immunitaire combiné sévère
S-AICAR urinaire	Colorimétrie	Déficit en adénylo succinase
Sulfites urinaires	Colorimétrie	Déficit en sulfite oxydase
Test au glucagon	Colorimétrie	Exploration des hypoglycémies
Test à l'allopurinol	Colorimétrie	Déficit en ornithine transcarbamylase
Test de la sueur	Electrométrie	Diagnostic des mucoviscidoses
Tétrahydrobioptérine urinaire	CG-MS	Diagnostic des hyperphénylcétonuries
Thiosulfates urinaires	Colorimétrie	Déficit en sulfite oxydase
Transferrine sérique déficiente en acide sialique	Electrofocalisation	Diagnostic des CDG syndrome (carbohydrate disorders of glycosylation)
Trypsine immunoréactive sérique	Immunochimie	Dépistage néonatal de la mucoviscidose.

La méthode la plus simple est donnée ; GC-MS = chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.



ISSN : 1293-2892  
ISBN : 2-913-633-33-1  
EGOPRIM  
30/32 rue du Couëdic - 75014 Paris

Février 2002  
Dépôt légal : Février 2002

***Cahiers de formation déjà parus***

- |                                      |                                       |
|--------------------------------------|---------------------------------------|
| N° 1 : <b>HÉMATOLOGIE</b>            | N° 15 : <b>DÉPISTAGE</b>              |
| N° 2 : <b>IMMUNOANALYSE</b>          | <b>DE LA TRISOMIE 21</b>              |
| N° 3 : <b>PARASITOLOGIE</b>          | N° 16 : <b>IMMUNO-ALLERGIE (2)</b>    |
| N° 4 : <b>BACTÉRIOLOGIE</b>          | N° 17 : <b>VIRUS DES HÉPATITES</b>    |
| N° 5 : <b>HORMONOLOGIE</b>           | <b>A (VHA) et E (VHE)</b>             |
| <b>GAZOMÉTRIE</b>                    | N° 18 : <b>DOSAGE DES MÉDICAMENTS</b> |
| N° 6 : <b>G.B.E.A.</b>               | <b>TOME II</b>                        |
| N° 7 : <b>IMMUNO-ALLERGIE (1)</b>    | N° 19 : <b>VAGINITES ET VAGINOSES</b> |
| N° 8 : <b>HÉMOGLOBINES GLYQUÉES</b>  | N° 20 : <b>HÉMOSTASE ET THROMBOSE</b> |
| <b>LIPIDES</b>                       | N° 21 : <b>VIRUS DES HÉPATITES</b>    |
| N° 9 : <b>DOSAGE DES MÉDICAMENTS</b> | <b>B (VHB), DELTA (VDH),</b>          |
| <b>TOME I</b>                        | <b>C (VHC), AUTRES</b>                |
| N° 10 : <b>HÉMATOLOGIE</b>           | N° 22 : <b>SYNDROME</b>               |
| <b>CAS ILLUSTRÉS</b>                 | <b>DES ANTI-PHOSPHOLIPIDES</b>        |
| N° 11 : <b>AMIBES ET FLAGELLÉS</b>   | N° 23 : <b>PARASITES SANGUINS</b>     |
| <b>INTESTINAUX</b>                   | N° 24 : <b>BIOCHIMIE PEDIATRIQUE</b>  |
| N° 12 : <b>LES MALADIES A PRIONS</b> | N° 25 : <b>LES MOISSISSURES</b>       |
| N° 13 : <b>AUTOIMMUNITÉ</b>          | <b>D'INTÉRÊT MÉDICAL</b>              |
| <b>ET AUTOANTICORPS</b>              |                                       |
| N° 14 : <b>L'EXPLORATION</b>         |                                       |
| <b>DE LA THYROÏDE</b>                |                                       |

BIOFORMA est la structure nationale qui gère et organise la formation continue conventionnelle des directeurs et directeurs adjoints de L.a.b.m. privés.

Cette formation continue est financée par les trois Caisses Nationales de l'Assurance Maladie (C.N.A.M.T.S., C.C.M.S.A., et C.A.N.A.M.) dans le cadre de la convention passée entre elles et les trois syndicats de biologistes. (S.d.B., S.N.M.B., et S.L.B.C.).

A ce titre, BIOFORMA édite des cahiers de formation comme celui-ci.

Ces ouvrages sont distribués à chaque laboratoire d'analyse de biologie médicale, privés et hospitaliers, aux inspecteurs des DRASS, aux pharmaciens et médecins conseils des CRAM, aux responsables de la DGS et du Ministère de la Santé. Les précédents numéros, ou épuisés en version papier, seront disponibles à la consultation sur le site Internet [www.bioforma.net](http://www.bioforma.net) à partir de 2002.

Ces livres ne sont pas en vente dans le commerce et le tirage est de 6 500 exemplaires.