

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

Université Mouloud Mammeri
FACULTE DE MEDECINE
TIZI OUZOU



جامعة مولود معمري
كلية الطب
تيزي وزو

†.Θ%ΛΛ.Πξ†Γ%Η%Λ.†ΓΗ%ΓΓ%Q

Département de Pharmacie
N° D'ORDRE :

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

Présenté et soutenu publiquement

Le 18 JUILLET 2017

En vue de l'obtention du Diplôme de Docteur en Pharmacie

Thème :

**ETUDE SUR LES VALEURS DE REFERENCE BIOCHIMIQUES
CHEZ LA FEMME ADULTE : GLYCEMIE, BILAN HEPATIQUE
ET BILAN LIPIDIQUE.**

Réalisé par :

HADDAB Samiha

HAMANI Sadia

Promoteur : Dr. MEHNI Mohammed El Hadi

Membres du jury :

Dr. TOUDERT Amar MAHU Immunologie Faculté de Médecine UMMTO Président de jury
Dr. DAHMANI Dalila MAHU Biochimie Faculté de Médecine UMMTO Examinatrice
Dr. BELKAID Nawal MAHU Biochimie Faculté de Médecine UMMTO Examinatrice
Dr. CHIBAH Amar MA Biochimie Faculté de Médecine UMMTO Invité
Dr. MEHNI Mohamed El Hadi MAHU Biochimie Faculté de Médecine UMMTO Promoteur

ANNEE UNIVERSITAIRE : 2016/2017

Dédicaces

Je dédie ce travail à la mémoire de mon père, en témoignage de ma reconnaissance envers le soutien, les sacrifices et tous les efforts qu'il a fait pour mon éducation ainsi que ma formation. Qu'Allah l'accueille en son vaste paradis;

A celle qui m'a transmis la vie, l'amour, le courage, à toi chère maman : tout mon amour et ma reconnaissance ;

A mes chères sœurs Malika et Yamina et son époux Hakim ;

A mes chers frères Yacin et Kaci ;

A ma très chère nièce Léa que j'aime fortement ;

A mon cher Youcef et sa famille ;

Enfin, je dédie ce travail à mes très chères amies SAMIHA et AMET, je vous souhaite toute la réussite.

SADIA

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à la personne la plus chère à mes yeux et que j'aime tant «Ma maman», celle qui m'a tant donnée, sa présence m'a aidée à surmonter tous les obstacles, et sa joie a embelli mes succès.

A mes deux sœurs adorées SARAH et HOUDA qui m'ont toujours soutenue et que je chéris de tout mon cœur

A mon neveu ARSLAN «BIBICHOU» mon petit chéri d'amour que j'adore dont le simple sourire me ravit et me remplit de gaieté.

A ma tante FATIHA, ma deuxième maman merci pour ton amour et ton soutien

A mes chères amies SARAH, DIHYA, SADIA, AMAT merci les filles pour tous les moments passés ensemble les bons comme les mauvais votre amitié m'honore.

SAMIHA

Remerciements

Nous tenons à exprimer nos remerciements à notre promoteur D' MEHNI Mohamed El Hadi, pour ses judicieuses orientations ainsi que sa pleine confiance pour l'élaboration et l'accomplissement du présent mémoire de docteur en pharmacie.

Nous remercions le président et les membres du jury d'avoir accepté de lire et d'évaluer notre travail.

Nous souhaiterions remercier le chef de service du laboratoire central de biochimie du CHU Nedir Mohamed, D' DAHMANI Dalila, merci de nous avoir ouvert les portes du laboratoire et d'avoir permis de mener à bien ce travail.

Nous remercions les techniciens de la salle de prélèvements et du laboratoire central, d'avoir pris en charge nos prélèvements tout au long de l'année. Un grand merci à toutes les femmes qui ont participé à cette étude, nous vous remercions car sans vous nous n'aurions pas pu accomplir ce travail. Enfin nous adressons nos plus vifs remerciements à tous les membres du jury, merci pour votre présence et votre attention.

Nos derniers remerciements s'adressent à toutes les personnes qui ont contribué chacun à sa manière à la réussite de ce travail.

Table des matières

Dédicaces	
Remerciements	
Table des matières	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction	01
PARTIE I : Rappels bibliographiques	
CHAPITRE I : Le concept des valeurs de référence en biologie médicale	
1. Généralités	02
1.1. Notion des valeurs de référence	02
1.2. Intérêt des valeurs de référence.....	03
1.3. Autres notions	05
2. Réglementation et recommandations de l'établissement des valeurs de référence ...	08
2.1. Réglementation ISO 15189.....	08
2.2. Exigence de la directive 98/79/CE du parlement européen	09
2.3. Recommandations et protocoles de L'IFCC et CLSI	09
3. Stratégie de l'établissement des valeurs de référence.....	11
3.1. La sélection des individus de référence	11
3.2. Choix des critères d'inclusion et d'exclusion	12
3.3. Le prélèvement	13
3.4. Le traitement spécimens biologiques après le prélèvement.....	14
3.5. Fiabilité des résultats de l'analyse biochimique	15
3.6. Validation des résultats	15
3.7. Le traitement statistique et analyse des données.....	15
3.8. Traçabilité	16
4. Stratégie de transférabilité des valeurs de référence.....	17
CHAPITRE II : Les paramètres biochimiques de l'étude	
1. Glycémie.....	20
2. Les paramètres du bilan hépatique.....	26
2.1. Phosphatases alcalines	26
2.2. Gamma glutamyl transférase	28
2.3. Bilirubine totale et bilirubine directe	32
2.4. Les transaminases	36
3. Les paramètres du bilan lipidique	40
3.1. Cholestérol total.....	40
3.2. Triglycérides	45
3.3. HDL-cholestérol	49

3.4. LDL-cholestérol.....	54
---------------------------	----

PARTIE II : Partie pratique

Matériel et méthodes

1. Caractéristiques de l'étude.....	58
2. Population de l'étude.....	58
2.1. Echantillonnage.....	58
2.2. Description de la population.....	59
3. Matériel biologique.....	61
4. Matériels techniques.....	62
4.1. Le consommable.....	62
4.2. Appareillage et réactifs.....	62
5. Méthodes d'étude.....	64
5.1. Etape pré-analytique.....	64
5.1.1. Recrutement des sujets de l'étude.....	64
5.1.2. Préparation des sujets pour le prélèvement.....	65
5.1.3. Le prélèvement proprement dit.....	65
5.1.4. Le recueil du spécimen pour le l'analyse.....	65
5.2. Etape analytique.....	66
5.2.1. Paramètres retenus pour l'étude.....	66
5.2.2. Contrôle qualité et validation des méthodes analytiques.....	66
5.2.3. Dosage des paramètres de l'étude sur ADVIA®1800.....	67
5.3. Etape post analytique.....	68
5.3.1. Validation des résultats.....	68
5.3.2. Recueil et analyse statistique des résultats.....	68
5.3.3. Méthodes statistiques.....	69

Résultats

1. Glycémie.....	74
2. Les paramètres du bilan lipidique.....	76
3. Les paramètres du bilan hépatique.....	88

Discussion

Conclusion.....	111
-----------------	-----

Références bibliographiques

Annexes

Résumé

Abréviations

ADA : American diabetes association.

Acétyl coA : Acétyl coenzyme A.

ACTH : Adrénocorticotrophique hormone.

ALAT/ALT : Alanine amino transférase.

ANB : 5-amino-2-nitro- benzoate.

ATP III : Adulte treatment panel III.

Apo : Apolipoprotéine.

ASAT/AST : Aspartate amino transférase

CE : Cholestérol estérifié.

CE : Communauté européenne.

CEI : Commission electrotechnique internationale.

CHU : Centre hospitalo-universitaire.

CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute.

CHOL/CHOL T : Cholestérol total.

BD : Bilirubine directe.

BT : Bilirubine totale.

DGKC : Deutsche Gesellschaft für Klinische Chemie.

DHAP : Dihydroxyacétone phosphate

EDTA : Acideéthylène-diamine-tétraacétique

EPA : Endpoint Assay.

GBEA : Guide de bonne exécution des analyses.

GGT : Gamma glutamyl transférase.

GLUO : Glucose oxydase.

GPO : Glycérol-3-phosphate-oxydase.

HDL : High density Lipoprotein.

HDL-C : High density Lipoprotein cholesterol.

HMG-CoA : Hydroxy methyl glutaryl coenzyme A.

IDL : Intermediate Density Lipoprotein.

IFCC : International Federation of Clinical Chemistry.

IFCC-LM : International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine.

IR : Intervalle de référence.

ISO : International Organization for Standardization.

ISO-CE : International Organization for Standardization- communauté européenne.

ISO-TC : International Organization for Standardization- technical committees.

LCAT : Lécithine-cholestérol acyltransférase.

LCR : Liquide céphalo rachidien.

LDL : Low density lipoprotein.

LDL-C : Low density lipoprotein cholesterol.

LHS : lipase hormonosensible.

LPL : Lipoprotéine Lipase.

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide réduit.

NCEP : National Cholesterol Education Program.

OMS : Organisation Mondiale de la Santé.

PAL : Phosphatases alcalines.

PCC1 : PreciControlClinChemMulti1

PCC2 : PreciControlClinChemMulti2

P-NPP : Para-nitrophénylphosphate.

RAA : Reaction rate assay.

SFBC : Societe Française de Biologie Clinique.

TRIG/TG : Triglycérides.

UV: Ultra Violet.

VLDL : Very low density lipoprotein.

Liste des tableaux

Tableau 01 :Les valeurs normales de la glycémie	24
Tableau 02 :Les valeurs normales des phosphatases alcalines	27
Tableau 03 :Les valeurs normales de la Gamma glutamyl transférase.....	30
Tableau 04 : Les valeurs normales de la Bilirubine totale.....	34
Tableau 05 :Les valeurs normales de la Bilirubine directe.....	34
Tableau 06 :Les valeurs normales de l'ASAT et l'ALAT selon l'SFBC et le DGKC	37
Tableau 07 :Les valeurs normales de l'ASAT et l'ALAT selon un laboratoire européen accrédité 15189 et le laboratoire du CHU de Tizi-Ouzou.....	38
Tableau 08 : Les valeurs normales du cholestérol total selon les normes européennes	43
Tableau 09 : Les valeurs normales du cholestérol total selon les normes américaines	43
Tableau 10 :Les valeurs normales des triglycérides selon les normes européennes.....	47
Tableau 11 : Les valeurs normales des triglycérides selon les normes américaines	48
Tableau 12 : Les valeurs normales de l'HDL cholestérol selon les normes européennes..	52
Tableau 13 : Les valeurs normales de l'HDL cholestérol selon les normes d'un laboratoire européen accrédité ISO 15189	52
Tableau 14 : Les valeurs normales de l'LDL cholestérol selon les normes européennes ..	56
Tableau 15 : Les valeurs normales de l'LDL cholestérol selon les normes américaines	56
Tableau 16 : Répartition de la population d'étude selon l'âge	60
Tableau 17 : Distribution de la population d'étude selon le tour de taille.....	61
Tableau 18 : Méthodes analytiques de dosage des paramètres de l'étude.....	67
Tableau 19 :Comparaison entre les intervalles de l'Advia et ceux observés pour les différents paramètres de l'étude	71
Tableau 20 : Comparaison entre les groupes d'âge et les groupes de tour de taille pour les différents paramètres de l'étude	73
Tableau 21 :Données statistiques pour le paramètre glycémie	74
Tableau 22 :Intervalle de référence de la glycémie	75
Tableau 23 :Données statistiques pour le paramètre cholestérol total	77
Tableau 24 :Intervalle de référence du cholestérol total	78
Tableau 25 :Données statistiques pour le paramètre triglycérides.....	80
Tableau 26 :Intervalle de référence des triglycérides	81
Tableau 27 :Données statistiques pour le paramètre cholestérol-HDL	82
Tableau 28 : Intervalle de référence du cholestérol-HDL	83

Tableau 29 :Données statistiques pour le paramètre cholestérol-LDL.....	85
Tableau 30 : Intervalles de référence du cholestérol-LDL	86
Tableau 31 :Données statistiques pour les phosphatases alcalines.....	88
Tableau 32 :Intervalles de référence des phosphatases alcalines.....	89
Tableau 33 :Données statistiques pour la GGT	91
Tableau 34 :Intervalles de référence de la GGT	92
Tableau 35 :Données statistiques pour la bilirubine totale	94
Tableau 36 :Intervalles de référence de la bilirubine totale	95
Tableau 37 : Données statistiques pour la bilirubine directe	97
Tableau 38 :Intervalles de référence de la bilirubine directe	98
Tableau 39 :Données statistiques pour l'ASAT.....	100
Tableau 40 : Intervalles de référence de l'ASAT	101
Tableau 41 : Données statistiques pour l'ALAT	102
Tableau 42 : Intervalles de référence de l'ALAT	103

Liste des figures

Figure 01 : Relation entre les différents termes employés dans la définition du concept des valeurs de référence.....	07
Figure 02 :Structure chimique du glucose	20
Figure 03 : Métabolisme du glucose	21
Figure 04 : Régulation glucidique non hormonale.....	22
Figure 05 : Régulation glucidique hormonale.....	23
Figure 06 : Structure chimique de la bilirubine	32
Figure 07 : Métabolisme de la bilirubine	33
Figure 08 : Limitesdu profil lipidique souhaitables	40
Figure 09 : Structure chimique du cholestérol	41
Figure 10 : Schéma simplifié de la biosynthèse du cholestérol	42
Figure 11 : Structure chimique des triglycérides	46
Figure 12 :Structure de l'HDL cholestérol.....	50
Figure 13 :Métabolisme de l'HDL cholestérol	51
Figure 14 : Structure de l'LDL Cholestérol	54
Figure 15 : Métabolisme des VLDL et LDL.....	55
Figure 16 : Distribution de la population d'étude selon la région.....	59
Figure 17 : Distribution de la population d'étude selon l'âge.....	60
Figure 18 :Distribution de la population d'étude selon le tour de taille.....	61
Figure 19 : Le système de biochimie ADVIA 1800	63
Figure 20 : Proportion de la population en fonction de leur appartenance ou pas à l'intervalle de référence de l'ADVIA pour chaque paramètre étudié	72
Figure 21 : Répartition des données de la glycémie sans les valeurs aberrantes	74
Figure 22 : Distribution de la population d'étude selon le taux de glycémie	75
Figure 23 : Glycémie en fonction de l'âge et le tour de taille.....	75
Figure 24 : Répartition des données du cholestérol total sans les valeurs aberrantes.....	76
Figure 25 : Distribution de la population d'étude selon le taux de cholestérol total	77
Figure 26 : Cholestérol total en fonction de l'âge et du tour de taille.....	78
Figure 27 : Répartition des données des triglycérides sans les valeurs aberrantes	79
Figure 28 : Distribution de la population d'étude selon le taux des triglycérides.....	80
Figure 29 : Triglycérides en fonction de l'âge et du tour de taille	81
Figure 30 : Répartition des données du cholestérol-HDL sans les valeurs aberrantes	82

Figure 31 : Distribution de la population d'étude selon le taux du cholestérol-HDL.....	83
Figure 32: Cholestérol-HDL en fonction de l'âge et du tour de taille	84
Figure 33: Répartition des données du cholestérol-LDL sans les valeurs aberrantes.....	85
Figure 34: Distribution de la population d'étude selon le taux du cholestérol-LDL	86
Figure 35 : Cholestérol-LDL en fonction de l'âge et le tour de taille.....	87
Figure36: Répartition des données des phosphatases alcalines sans les valeurs aberrantes	88
Figure 37 : Distribution de la population d'étude selon le taux des phosphatases alcalines ..	89
Figure 38 : Phosphatases alcalines en fonction de l'âge et tour de taille	90
Figure 39 : Répartition des données de la GGT sans les valeurs aberrantes.....	91
Figure 40: Distribution de la population d'étude selon le taux de la GGT	92
Figure 41: GGT en fonction de l'âge et du tour de taille	93
Figure 42 : Répartition des données de la bilirubine totale sans les valeurs aberrantes	94
Figure 43 : Distribution de la population d'étude selon le taux de la bilirubine totale.....	95
Figure 44 : Bilirubine totale en fonction de l'âge et tour de taille	96
Figure 45: Répartition des données de la bilirubine directe sans les valeurs aberrantes	97
Figure 46 : Distribution de la population d'étude selon le taux de la bilirubine directe.....	98
Figure 47: Bilirubine directe en fonction de l'âge et tour de taille	99
Figure 48 : Répartition des données de l'ASAT sans les valeurs aberrantes.....	99
Figure 49 : Distribution de la population d'étude selon le taux de l'ASAT	100
Figure 50 : ASAT en fonction de l'âge et du tour de taille.....	101
Figure51 : Répartition des données de l'ALAT sans les valeurs aberrantes.....	102
Figure 52: Distribution de la population d'étude selon le taux de l'ALAT.....	103
Figure 53 : ALAT en fonction de l'âge et tour de taille.....	104

INTRODUCTION GENERALE

Introduction générale

La biochimie est une science expérimentale qui vise l'étude des processus chimiques à la base de la vie, c'est une discipline essentielle qui englobe une panoplie de domaines allant de la médecine à l'agriculture, mais son rôle le plus pertinent et le plus précieux consiste en la préservation de la vie humaine. La biochimie médicale ou exploratrice est d'une importance capitale dans le dépistage et le diagnostic de diverses pathologies et assure d'autre part le suivi des malades. De nos jours, elle prend une ampleur tellement remarquable qu'elle pourrait éclipser le diagnostic clinique. Cependant, pour l'utiliser de façon optimale, l'analyse biochimique répond à des conditions de qualités scrupuleuses et minutieuses qui valorisent ses résultats.

Pour une bonne interprétation des résultats produits par un laboratoire de biochimie médicale, ce dernier doit les comparer de façon continue avec une série de valeurs dites « valeurs de référence », elles sont obtenues préalablement sur des individus sélectionnés selon des critères bien définis, le tout effectuer suivant des procédures et des méthodes recommandées et agréées par des organisations savantes spécialisées dans ce domaine.

Ces valeurs sont rencontrées dans la littérature sous divers noms : valeurs normales, valeurs usuelles avec diverses variations intra et inter population. Ce qui rend l'interprétation des examens de laboratoire assez délicate. C'est pour cela que les organisations internationales recommandent l'établissement des valeurs de référence pour chaque laboratoire dans le but d'optimiser le processus du diagnostic médical.

Notre étude s'intéressera à la vérification et le transfert d'intervalles des valeurs biologiques de la femme adulte présumée saine pour le laboratoire central de biochimie du centre hospitalo-universitaire de Tizi-ouzou.

Objectif :

Contribution au transfert d'intervalles des valeurs biologiques et leurs validations, et ce pour le bilan lipidique et hépatique et de la glycémie chez la femme adulte présumée saine au niveau du laboratoire central de biochimie du centre hospitalo-universitaire de tizi-ouzou.

PARTIE

I

PARTIE THEORIQUE

CHAPITRE

I

Le concept des valeurs de référence en biologie clinique

1. Généralités

Le concept des valeurs de référence en biologie clinique a vu le jour à la fin des années soixante, c'est l'un des moyens incontournables pour décrire les différentes valeurs que peuvent prendre les résultats des tests de biologie médicale c'est-à-dire, la variabilité des constantes biologiques dans des populations de référence, exemptes de pathologies ou de traitements susceptibles de modifier ces paramètres. N'oublions pas que ces mêmes constantes sont physiologiquement variables selon l'âge, le sexe, l'origine géographique et autres modalités qui seront détaillées plus tard.

Les valeurs de référence ont été introduites et élaborées afin de remplacer une multitude de termes ambigus qui sont utilisés par les cliniciens et biologistes mais aussi par la population tels que valeurs normales, valeurs usuelles et norme [1].

La notion de valeurs de référence a été développée par les experts de la société française de biologie clinique dont les conclusions ont été reprises par d'autres sociétés, et à l'échelle internationale par la fédération internationale de chimie clinique et médecine de laboratoire (IFCC) et mises à jour pour aboutir à la dernière version des recommandations par l'IFCC [2].

1.1. Notion de valeur de référence

1.1.1. Valeurs de référence : c'est les valeurs obtenues par l'observation ou la mesure d'une quantité définie sur un individu de référence. Ce concept implique que pour toutes les grandeurs biologiques mesurées, la distribution des valeurs mesurées est donc obtenue à partir d'un groupe homogène d'individus en bonne santé sélectionnés selon des critères d'inclusion et d'exclusion et de partition bien définis, elles sont la plupart du temps présentées sous forme d'intervalle de référence [2] [3].

La théorie des intervalles de référence vise à décrire de manière aussi précise que possible les variations des marqueurs biologiques utilisés en médecine chez des sujets supposés en bonne santé. Leur détermination au laboratoire de biologie médicale repose jusqu'à présent sur un apanage de méthodes statistiques parfois complexes et basées principalement sur des

recommandations de l'expert Panel sur la théorie des valeurs de référence de l'IFCC-LM et de CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), datant des années quatre-vingts [2].

1.1.2. Intervalle de référence : il est borné par deux limites de référence ; une limite inférieure et une limite supérieure, celles-ci incluses. Il comprend en général 95% de la population, centré sur la médiane. Il correspond aussi à l'intervalle spécifié, calculé de la distribution des valeurs obtenues à partir de population de sujets sains. Il peut varier en fonction du type d'échantillon et de la méthode utilisée [4].

Les intervalles de référence, supposés décrire les fluctuations d'une variable chez des sujets en bonne santé, ne décrivent que 95% des sujets en bonne santé, laissant 2.5% de valeurs en deçà et au-delà de ces limites [3].

Dans certains cas, une seule limite de référence peut être retenue, habituellement, la limite supérieure [4].

Le concept des valeurs de référence a progressivement éliminé la notion de valeurs normales ou usuelles ces termes sont donc non seulement impropres mais inexacts puisque ne correspondant pas à la réalité de la physiologie humaine.

1.2. Intérêt des valeurs de référence

Les valeurs de référence sont mises à profit comme index dans de nombreuses situations.

1.2.1. Intérêt diagnostic médical

Au cours du diagnostic médical, les valeurs de référence permettent :

- ✓ D'apprécier différentes situations cliniques ;
- ✓ De vérifier un état de santé chez un patient ;
- ✓ De dépister des affections cliniquement non décelables ;
- ✓ D'interpréter une variation biologique significative ;
- ✓ D'établir une limite de décision adaptée à chaque cas particulier de patient ;

- ✓ D'apprécier la probabilité de survenue d'une maladie en comparant la valeur observée d'un paramètre biologique donné à celle d'un groupe de référence bien homogène, afin d'alerter le patient.

1.2.2. Intérêt de suivi thérapeutique et de pronostic

Il s'agit d'évaluer l'effet thérapeutique, et/ou de surveiller un risque dû à la médication. Par exemple ; la surveillance biologique de l'activité anticoagulante des anti-vitamine K du fait de leur faible marge thérapeutique et de la grande variabilité inter-individuelle de la posologie.

En effet, pour dire qu'un sujet est atteint d'un syndrome, il faut comparer la valeur mesurée à celle d'un groupe de référence atteint du même syndrome, afin d'avoir une vision clarifiée du pronostic clinique.

L'étude comparative de populations saines et malades pour une variable biologique donnée, permet de classer les examens suivant leur pouvoir discriminant.

1.2.3. Intérêt épidémiologique

L'établissement des valeurs de référence permet de mesurer la prévalence de certaines pathologies dans une population à un échelon régional, national et international.

On peut ainsi étudier les différences ethniques du régime alimentaire, socio-culturel ou génétique et déterminer les conditions de transmissibilité des valeurs de référence d'un laboratoire à un autre ou d'un pays à un autre.

L'étude comparative de population saine et de population malade permettra de classer les examens biochimiques selon leur pouvoir discriminant, en ce sens les valeurs de référence contribueront à définir des priorités pour les examens de santé, d'autre part l'étude des de ces valeurs dévoile l'importance des déviations des paramètres biologiques sous l'effet des différents facteurs [3] [5] [6].

En somme les intérêts multiples des valeurs de référence et leur contribution dans bien des domaines justifient les raisons de notre étude.

1.3. Autres notions

Valeur normale : c'est des valeurs établies à partir d'un groupe bien défini d'individus représentatifs de la population générale, non soumis à une sélection préalable ou à un changement de conditions de vie [5].

Valeur usuelle : elles correspondent aux valeurs les plus souvent rencontrées avec les techniques les plus courantes. Elles sont obtenues à partir de population hétérogène pour lesquelles plusieurs facteurs de variation n'ont pas été suffisamment contrôlés.

Ces populations sont souvent rassemblées pour des raisons pratiques. Exemple : groupe d'étudiants en pharmacie.

Valeur observée : valeur d'une variable biologique ou d'un analyte obtenue par observation ou mesure sur un sujet à tester et qui doit être comparée à des valeurs de référence, une distribution de référence, des limites de référence ou un intervalle de référence [2].

Individu de référence : une personne sélectionnée sur la base de critères bien définis (supposée en bonne santé, âge, sexe, conditions de vie décrits) [2].

Population de référence : rassemble tous les individus de référence [2].

Echantillon de référence : c'est une partie de la population de référence, il est constitué d'un certain nombre d'individus de référence [2].

Distribution de référence : c'est la représentation de la répartition des valeurs de référence, généralement sous forme d'un histogramme de valeurs obtenues chez des individus constituant l'échantillon de référence [2].

Limite de référence : c'est une valeur dérivée de la distribution de référence, elle permet de comparer une valeur observée aux données de référence, elle est utilisée dans un but descriptif d'un état de santé donné d'une population de référence bien définie et contribue à la prise de décision médicale [2].

Les limites de référence sont l'image d'une population homogène, la plus proche possible du sujet observé, elles sont donc adaptées à l'âge, au sexe ou à un état physiologique particulier comme la grossesse.

Pour quelques analytes, les limites de référence sont remplacées par des limites de décision établies le plus fréquemment par un consensus national ou international, par méthode statistique ou par les études épidémiologiques.

Limite de décision : c'est des valeurs utilisées par le clinicien comme un seuil en dessous ou au-dessus duquel une action médicale est envisagée, en tenant compte des spécificités propres à chaque personne. Elles sont donc utiles pour poser un diagnostic ou une thérapeutique et varient avec la clinique et l'objectif [2].

Généralement, il existe deux limites de référence alors que le nombre de limites de décision est variable suivant l'examen de laboratoire concerné et le contexte clinique.

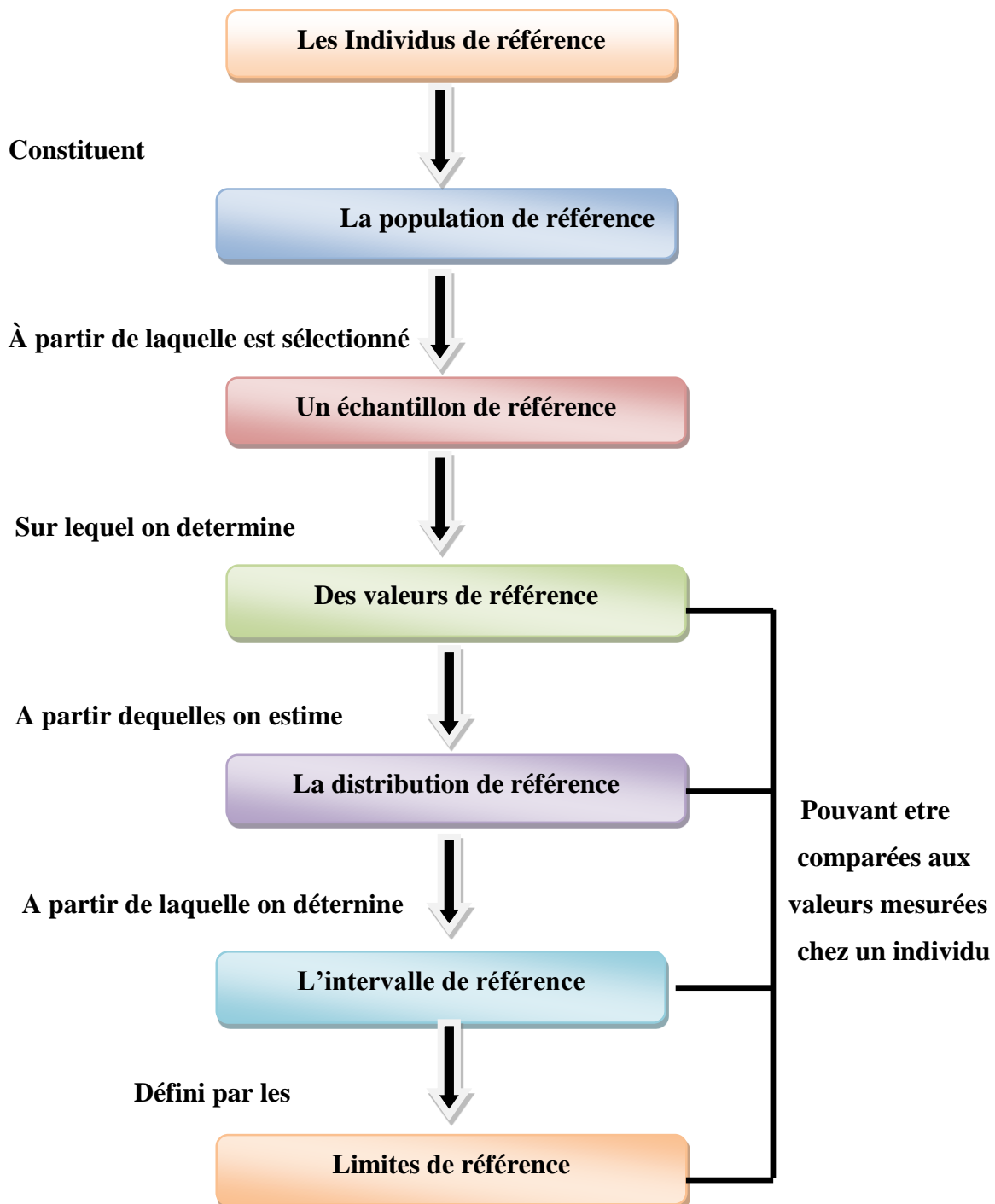


Figure N°01 : Relation entre les différents termes employés dans la définition du concept des valeurs de référence.

2. Réglementation et recommandations de l'établissement des valeurs de référence :

Repose sur les travaux de la Fédération internationale de chimie clinique (IFCC) et du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), récemment révisées

- Basé sur des documents de normalisation et des recommandations de sociétés savantes (GBEA, norme ISO 15189, directive 98/79/CE) [7].

2.1. Réglementation ISO15189

L'ISO (organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation, qui confie aux comités techniques l'élaboration des normes internationales, rédigées conformément aux règles données dans les directives ISO/CEI, partie 2.

Les projets d'élaboration des normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote, leur publication comme normes internationales requiert l'approbation de 75% au moins des comités membres votants.

L'ISO 15189 a été élaborée par le comité technique ISO/TC212, laboratoires de biologie médicale et système de diagnostic in vitro [8].

Norme ISO 15189 concernant les valeurs de référence biochimiques

- « Le laboratoire doit définir les intervalles de référence biologique ou les valeurs de décision clinique, documenter la base des intervalles de référence ou valeurs de décision et communiquer ces informations aux utilisateurs » [7].
- « Si le laboratoire modifie une procédure analytique ou préanalytique, il doit revoir les intervalles de référence et les valeurs de décision clinique associés, selon les cas » [7].

Pour un nouvel analyte ou une nouvelle méthode, s'il n'existe pas de données fiables dans la littérature, le laboratoire utilisera le protocole décrit par l'IFCC-LM et le CLSI pour déterminer l'intervalle de référence [7].

2.2. Exigence de la directive 98/79/CE du parlement européen

La directive 98/79/CE du parlement européen et du conseil du 27 octobre 1998 relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro précise dans les exigences relatives à la conception et la fabrication figurant dans l'annexe I de l'article 3 (exigence essentielle) concernant les informations fournies par le fabricant que : «8.7. La notice d'utilisation doit comprendre, le cas échéant, les indications suivantes:(.....)l) les intervalles de référence pour les quantités à déterminer, y compris une indication de la population de référence considérée ; » (Journal officiel des Communautés européennes, 1998).

2.3. Recommandations et protocole de L'IFCC et CLSI

➤ IFCC

International federation of clinical chemistry and laboratory medicine ou fédération internationale de chimie clinique et médecine de laboratoire est une organisation internationale non politique qui assure divers rôles dont le plus important est l'établissement de normes mondiales en collaboration avec d'autres organisations internationales [9].

➤ CLSI

Clinical and laboratory standards institute est un organisme sans but lucratif qui rassemble la communauté mondiale des différents laboratoires pour une cause commune : la promotion de l'excellence en médecine de laboratoire et l'établissement de normes concernant les protocoles et les tests effectués à ce niveau [10].

La détermination des intervalles de référence au laboratoire de biologie médicale repose jusqu'à présent sur des recommandations basées sur les travaux de l'Expert Panel sur la « théorie des valeurs de référence » de la Fédération internationale de chimie clinique et médecine de laboratoire (IFCC-LM) datant des années 1980. Elles viennent d'être révisées récemment par l'IFCC-LM et le *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) [2].

Les recommandations et le protocole de base pour l'établissement des valeurs de référence décrits par l'IFCC-LM et la CLSI :

- établir la liste des facteurs de variations biologiques et analytiques principalement l'âge, le sexe et les méthodes analytiques utilisées ;
- déterminer les critères d'exclusion et de partition sur la base d'un questionnaire adapté, les plus pertinents sont l'âge, l'existence de pathologies aiguës ou chroniques ou d'antécédents personnels, la prise de médicaments à long terme, une surcharge pondérale, la consommation de tabac et/ou d'alcool, l'état physiologique ex : grossesse ;
- rédiger un formulaire de consentement éclairé, écrit et le faire signer par les individus sélectionnés ;
- classer les individus de référence potentiels sur la base des données du questionnaire ou d'autres modes d'évaluation de l'état de santé ;
- exclure les individus de l'échantillon de référence en fonction de critères prédéterminés ;
- définir le nombre adéquat d'individus de référence Les méthodes statistiques classiques imposent un nombre minimal d'au moins 120 valeurs par classe ou sous-classe. En effet, le nombre de valeurs conditionne directement la précision du calcul des limites de référence ;
- préparer les individus sélectionnés pour la collecte de l'échantillon en adéquation avec les procédures habituellement utilisées pour les patients au laboratoire ;
- recueillir et traiter les échantillons ;
- collecter les valeurs de référence : analyser les spécimens suivant des méthodes bien définies et décrites ;
- contrôler les valeurs de référence. Établir un histogramme pour évaluer la distribution des données ;
- identifier de possible erreurs et/ou des valeurs aberrantes ;
- analyser les valeurs de référence : sélectionner une méthode statistique puis calculer les limites de référence et l'intervalle de référence ;
- documenter l'ensemble des étapes et des procédures suivies [2].

Les recommandations IFCC/CLSI proposent ainsi de vérifier que les limites de référence publiées sont applicables à l'exercice de chaque laboratoire. Enfin, les limites de ces recommandations révisées (notamment concernant la sélection d'une population de référence,

la maîtrise de la variabilité analytique, le choix d'une méthode statistique, etc.) sont discutées [2].

3. Stratégie de l'établissement des valeurs de référence

Ce sont les différentes stratégies utilisées par les chercheurs biologistes et cliniciens pour établir les valeurs de référence biologiques. Ces dernières ne peuvent être adaptées ni utilisées à des fins d'interprétation que si toutes les étapes de leurs productions sont explicitement décrites et connues. Pour cela, il faut tout d'abord définir la population de référence ensuite, procéder à la mesure sur un échantillon représentatif de cette population.

3.1. La sélection des individus de référence

C'est la première étape de ce processus fastidieux et de loin la plus importante car les valeurs de référence doivent être établies à partir d'échantillon de population homogène ou ensemble de référence. Le degré d'homogénéité est en fonction des critères d'exclusion et d'inclusion retenus. La sélection de la population référence se fait soit après un examen clinique, soit à l'aide d'un questionnaire ou fiche de renseignement qui regroupent les critères établis et adaptés aux objectifs émis, les individus « malades » ou présentant des « facteurs de risque » seront exclus [2] [5] [6].

Suivant les différentes possibilités dont disposant les biologistes, les valeurs de référence pourront être obtenues par tri a posteriori des valeurs d'une population importante ou par mesure directe des facteurs biologiques sur une population restreinte bien triée a priori.

3.1.1. Technique d'échantillonnage directe (recommandée)

3.1.1.1. La sélection à posteriori (>1000 sujets)

La sélection à posteriori des individus de référence se fait à partir d'une population importante exemple : mille individus, les sujets sont d'abord préparés pour le prélèvement, après cela ils pourront remplir la fiche de renseignement. Une fois les résultats des prélèvements obtenus, l'échantillon de référence sera sélectionné grâce aux critères d'inclusions et d'exclusion, une

analyse statistique sera effectuée, et on procède à l'établissement des valeurs de référence [2] [5] [6].

3.1.1.2. La sélection à priori (50 à 150 sujets)

La sélection à priori consiste à établir les critères de sélection et ensuite sélectionner 50 à 150 individus de référence qui remplissent les critères d'inclusion et ne portent pas les critères d'exclusion, ensuite, les sujets seront préparés pour le prélèvement. Une fois les résultats obtenus, ils seront soumis à des traitements statistiques puis les valeurs de référence peuvent être déterminées. C'est cette sélection qui a été choisie pour notre étude [2] [5] [6].

3.1.2. Technique d'échantillonnage indirecte

Cette technique est relativement simple et peu coûteuse, elle est employée principalement s'il est trop difficile de recueillir des échantillons en bonne santé (ex : pédiatrie, LCR...). Pour cela, on utilise les informations contenues dans une base de données d'un laboratoire ou d'un hôpital, puis, on applique des méthodes statistiques sophistiquées.

Des précautions particulières seront prises pour éviter d'inclure des valeurs d'individus « malades » ou « à risque » [2].

3.2. Choix des critères d'inclusion et d'exclusion

3.2.1. Choix des critères d'inclusion

Ce sont des facteurs de variations individuelles mesurables, les plus fréquents sont l'âge, le sexe, le poids, la taille et le tour de taille, ces critères sont indispensables car ils représentent la constitution propre des sujets étudiés. Une fois établis, ils permettent la sélection d'une population homogène qui convient pour l'établissement des valeurs de référence. Les facteurs de partition visent à classer les individus de référence en différentes sous classes [5].

3.2.2. Choix des critères d'exclusion

Ce sont des facteurs non maitrisables, variant d'un sujet à un autre et qui constituent impasse devant la sélection des individus, ils visent à sélectionner des groupes d'individus en bonne santé en éliminant les individus « malades » ou « à risque ». En pratique courante, il faut évincer :

- ✚ Les individus prenant des médicaments ;
- ✚ Les sujets atteints d'affections ;
- ✚ Les sujets étant dans des états physiologiques particuliers : femmes enceintes, les sportifs après un exercice important, etc.
- ✚ Les sujets atteints de déviation ou de facteurs de risque : surcharge pondérale, alcoolisme, tabagisme. [5]

En dehors des critères cités, il existe des variations interindividuelles et intra-individuelles des paramètres biologiques qu'il faudra prendre en compte, ce sont des facteurs physiologiques (âge, sexe, poids) et environnementaux (nutrition ; toxiques et médicaments). Il existe aussi des variations techniques liées aux conditions de prélèvement et à la méthodologie analytique. L'objectif est de contrôler et de maitriser ces facteurs pré-analytiques et analytiques pour en minimiser l'effet.

3.3. Le prélèvement

3.3.1. La préparation des individus pour le prélèvement

L'exactitude et la précision de l'étude sont en grande partie dues au bon déroulement du prélèvement, c'est l'étape primordiale qui conditionne toutes les procédures postérieures.

3.3.1.1. L'origine du spécimen

1/ la ponction artérielle utilisée pour certain type de prélèvements tel que le dosage des gaz du sang ;

2/ le prélèvement capillaire ;

3/ la ponction veineuse, le prélèvement choix pour cette étude car elle convient aux paramètres étudiés, elle se fait généralement au pli du coude à l'aide d'un garrot peu serré, le patient étant mis au repos depuis quelques minutes.

4/ Autres : urines, LCR... etc

3.3.1.2. La nature du spécimen

Le plasma et le sérum constituent les deux spécimens qui peuvent être utilisés pour le dosage des paramètres biologiques.

- Le plasma : ce spécimen est le plus facile à obtenir, le seul biais concerne l'anticoagulant, ce dernier doit respecter l'intégrité du prélèvement et n'occasionner aucune interférence dans le résultat final. Dans certaines situations, il est nécessaire d'avoir un anticoagulant particulier exemple : fluorure de sodium pour la glycémie.
- Le sérum : pour le sérum, le problème des anticoagulants ne se pose plus mais son obtention reste délicate, il faut éviter l'altération du spécimen pendant la séparation ex : hémolyse par excès de trituration [5].

3.3.1.3. Normalisation du matériel de prélèvement

Le choix du matériel dépend :

- ❖ De la nature du matériel : le verre comporte des risques de contamination (calcium, sodium) et a l'avantage d'être stérilisable. L'utilisation des tubes en matière plastique présente une mauvaise rétraction du caillot de sang.
- ❖ Du type du matériel : les épicroâniennes et tubes à usage unique sont d'usage courant pour la plupart des prélèvements [5].

3.4. Le traitement spécimens biologiques après le prélèvement

Le traitement de l'échantillon peut se faire immédiatement ou après conservation à court ou long terme [5].

3.5. Fiabilité des résultats de l'analyse biochimique

La fiabilité est la confiance accordée aux résultats obtenus à l'aide d'une méthode de dosage, et ce en fonction de sa sensibilité, sa spécificité, sa limite de détection, son exactitude et sa précision ; les deux derniers critères doivent nécessairement avoir été évalués ou réévalués de manière satisfaisante par un contrôle journalier à partir d'un sérum de contrôle [5].

3.6. Validation des résultats

Les résultats de laboratoire ne peuvent pas être communiqués s'ils n'ont pas été validés.

La validation des résultats doit être réalisée à deux niveaux :

- une validation analytique qui peut être réalisée par le personnel exécutant sous la compétence, la responsabilité et avec des instructions précises du médecin ou pharmacien biologiste, cette validation concerne le contrôle qualité des réactifs et appareils automatisés utilisés ainsi que les contrôles et calibrages nécessaires.
- une validation clinique qui est de la compétence exclusive du médecin ou pharmacien biologiste, Ici on vérifie les résultats de l'ensemble des analyses réalisées pour un même patient, compte tenu des données cliniques disponibles, des résultats antérieurs, du traitement suivi et de l'évolution de son état clinique.

3.7. Le traitement statistique et analyse des données

Lors de la réalisation d'une étude sur les valeurs de référence, le choix des méthodes statistiques est conditionné par l'objectif de la recherche, mais aussi par le volume des données disponibles (nombre de variables et nombre de sujets).

L'analyse statistique des résultats est effectuée sur ordinateur à l'aide d'un logiciel. Deux méthodes statistiques sont couramment utilisées :

- ✚ la méthode paramétrique Gaussienne: elle est utilisée lorsque la répartition des valeurs est normale; elle est déterminée entièrement par deux paramètres, la moyenne et l'écart-type. L'intervalle de référence est alors donné par: $m \pm 1,96 s$ au risque $\alpha = 5\%$ avec m =moyenne des valeurs, X_i les valeurs observées (ou obtenues) ; s =écart-type

- ✚ la méthode non paramétrique des quantiles : elle est appliquée lorsque la distribution ne suit pas la loi normale, elle requiert cependant une sélection soigneuse des individus de référence et un nombre d'individus suffisant (≥ 120) et c'est la méthode que recommande actuellement l'IFCC-LM. Elle consiste à aligner les valeurs obtenues par ordre croissant et éliminer à 2,5% des valeurs basses et 2,5% des valeurs hautes, soit 5% des valeurs. Les valeurs restantes constituent l'intervalle de référence qui contient 95% des valeurs, encadré par la plus petite et la plus grande valeur de référence résiduelle. Ayant échappé à l'élimination ;
- ✚ La méthode robuste a été introduite récemment dans le dernier document de l'IFCC/CLSI. Elle peut rendre des services lorsque le nombre de sujets est limité. Elle ne requiert pas que la distribution soit gaussienne. Sur le plan statistique c'est une méthode proche de la méthode paramétrique, sauf qu'elle mesure la position et la dispersion au lieu de la moyenne et de l'écart-type [2] [5].

➤ *Nombre minimum de valeurs de référence :*

Les méthodes statistiques classiques imposent un nombre minimal d'au moins 120 valeurs par classe ou sous classe, le nombre de valeurs conditionne directement la précision du calcul des limites de référence. Le calcul de l'intervalle de confiance de chaque limite permet de valider le nombre d'individus retenus.

Lors des études statistiques, il convient aussi de mettre en évidence et d'éliminer les valeurs aberrantes [2].

3.8. Traçabilité

La traçabilité de toutes les opérations réalisées est requise, elle consiste notamment à documenter et à archiver les éléments du processus de détermination des intervalles de référence :

- conditions pré-analytiques ;
- méthode analytique ;
- sélection de l'échantillon de référence ;
- méthode statistique.

4. Stratégie de transférabilité des valeurs de référence

Chaque laboratoire doit déterminer ses propres intervalles de référence pour chaque nouveau test, méthode ou système analytique introduit au laboratoire car il n'existe pas de méthode simple et universelle à l'heure actuelle.

La principale difficulté vient de la sélection de la population et de la définition d'un individu en « bonne santé », pour tenter de contourner cette difficulté, il est proposé de procéder seulement à une « vérification » des limites de référence publiées à l'usage des laboratoires.

Le transfert de données produites par d'autres laboratoires ou de fabricants du diagnostic *in vitro*, associé à un processus de validation simple pourrait ainsi être d'une grande utilité. En revanche, il convient de respecter certaines conditions pour que le processus de transfert soit acceptable, notamment que les processus de sélection de la population et de mesure (pré-analytique et analytique) soient similaires. Dans cet esprit la version révisée des recommandations IFCC/CLSI propose plusieurs solutions en fonction de différents cas de figure [2].

4.1. Comparaison de systèmes analytiques :

La population du laboratoire détermine des limites de référence pour un système analytique donné : si le laboratoire décide de changer de méthode, la transférabilité à l'intérieur du même laboratoire vers un autre couple méthode-instrument se résume à une « comparaison de systèmes analytiques ». Dans ce cas il n'est pas nécessaire de sélectionner des individus de référence. Il s'agit d'une comparaison de méthodes suivant un protocole reconnu (SFBC). On calculera l'équation de la droite de régression (pente, ordonnée à l'origine, incertitude) et le coefficient de corrélation. On utilisera des sérums frais de patients en veillant à respecter l'étendue du domaine de mesure de la méthode concernée. La précision de chaque méthode devra être du même ordre de grandeur et les calibrants similaires.

4.2. Comparaison de populations

Lorsqu'un laboratoire souhaite transférer les intervalles de référence établis par un autre laboratoire ou par un fabricant de matériel ou de réactifs, la traçabilité de l'intervalle de référence dépasse le cadre strict d'une comparaison de systèmes analytiques, elle devient une question de comparaison de populations de référence. Plusieurs approches sont proposées dans les dernières recommandations de l'IFCC-LM et du CLSI :

4.2.1. Méthode subjective :

Consiste en la vérification de la cohérence des éléments essentiels de l'étude originelle avec les conditions de travail et la population du laboratoire, les principaux éléments à prendre en compte sont :

- les critères géographiques et démographiques ;
- les procédures pré-analytiques ;
- les performances analytiques ;
- la description de la population de référence et du protocole utilisé ;
- la méthode statistique de détermination de l'intervalle de référence.

Si tel est le cas, l'intervalle de référence de l'étude originelle peut être transféré sans vérification. La difficulté à disposer de l'ensemble des informations requises reste la principale limite.

4.2.2. Vérification de l'intervalle de référence à partir d'un échantillon de sujets apparemment sains :

Si la méthode subjective n'est pas applicable, le laboratoire vérifie l'intervalle de référence communiqué ou publié suivant le protocole :

- sélection de 20 individus présumés sains suivant des critères d'exclusion et d'inclusion requis;
- détermination des valeurs de référence avec la méthode à tester et vérification de l'homogénéité du groupe (en éliminant si nécessaire les valeurs aberrantes). Les conditions pré-analytiques et analytiques entre la méthode testée et l'originelle seront cohérentes ;
- les limites de référence à vérifier sont acceptées si le nombre de résultats en dehors des limites est inférieur ou égal à 2 ;

- une nouvelle sélection de 20 échantillons biologiques est analysée si le nombre de résultats en dehors des limites proposées est égal à 3 : le même protocole que précédemment est appliqué. Dans ces conditions, les limites de référence à vérifier sont acceptées si le nombre de résultats de la nouvelle sélection en dehors des limites est inférieur ou égal à 2 ;
- dans le cas où quatre résultats ou plus sont en dehors des limites proposées, il est conseillé de revoir la procédure analytique, d'envisager la présence de possibles différences biologiques et/ou démographiques et de déterminer les limites de référence de la méthode utilisée suivant le protocole originel [2].

CHAPITRE

II

LES PARAMETRES BIOCHIMIQUES DE L'ETUDE

1. Glycémie

1.1. Définition

La glycémie correspond au taux de glucose dans le sang [11]. Le glucose est un aldohexose comportant plusieurs fonctions alcool et une fonction réductrice aldéhydique, c'est le principal sucre de l'organisme de par son abondance et ses propriétés énergétiques et métaboliques, c'est aussi un messenger chimique essentiel. Ce qui rend la glycémie l'un des paramètres biochimiques les plus demandés en routine et en urgence [5] [12].

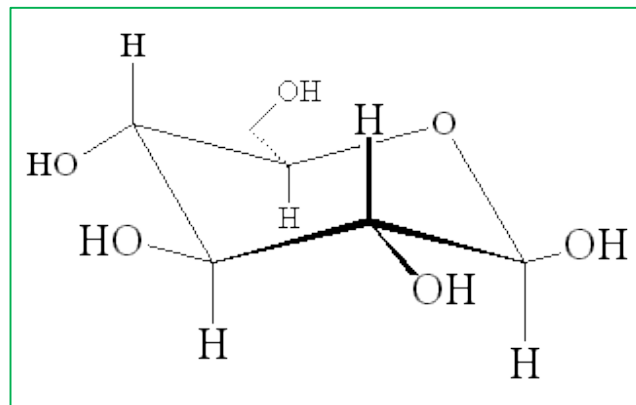


Figure N°02 : Structure chimique du glucose

1.2. Rôle, métabolisme et régulation physiologique

1.2.1. Rôle principal

Le glucose est considéré comme le carburant presque exclusif des neurones, donc du cerveau, et du muscle à l'effort intense. Tout manque de glucose sanguin perturbe le fonctionnement cérébral. Le métabolisme du glucose libère 4,1 kilocalories, soit 17 kilojoules par gramme. Une partie des calories libérées pour l'activité cellulaire ou le travail musculaire apparaît sous forme de chaleur, ce qui contribue au maintien de la température corporelle [13].

1.2.2. Métabolisme du glucose

Après absorption, le glucose est transformé en pyruvate par la glycolyse, voie d'EMBDEN MEYERHOF qui s'effectue en anaérobie, ce dernier est, suivant les conditions soit fermenté en lactate ou en éthanol, en aérobiose il est transformé en Acétyl CoA qui rentre dans le cycle de Krebs. En parallèle, il existe la voie des pentoses phosphates indispensable à la synthèse des pentoses qui entrent dans la formation des acides nucléiques et de NADPH.H^+ pour les réactions de biosynthèses [14].

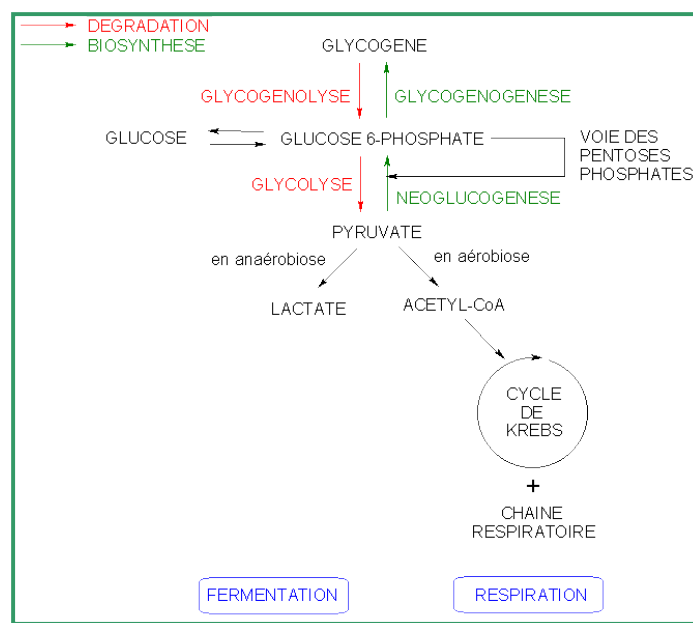


Figure N°03 : Métabolisme du glucose

1.2.3. Régulation physiologique

La régulation de la glycémie fait partie des processus du maintien de l'homéostasie au sein de l'organisme. Elle met en jeu plusieurs systèmes :

✓ **Organes et voie métaboliques**

Elle fait intervenir plusieurs organes notamment le foie qui est l'organe clé de la régulation glycémique par le biais de trois mécanismes : la glycogénogenèse, la glycogénolyse et la néoglucogénèse, le tissu adipeux le deuxième réservoir de stockage glucidique, aussi les muscles

capables de stocker le glucose sous forme de glycogène, enfin le rein et le milieu interstitiel qui interviennent dans les situations pathologiques.

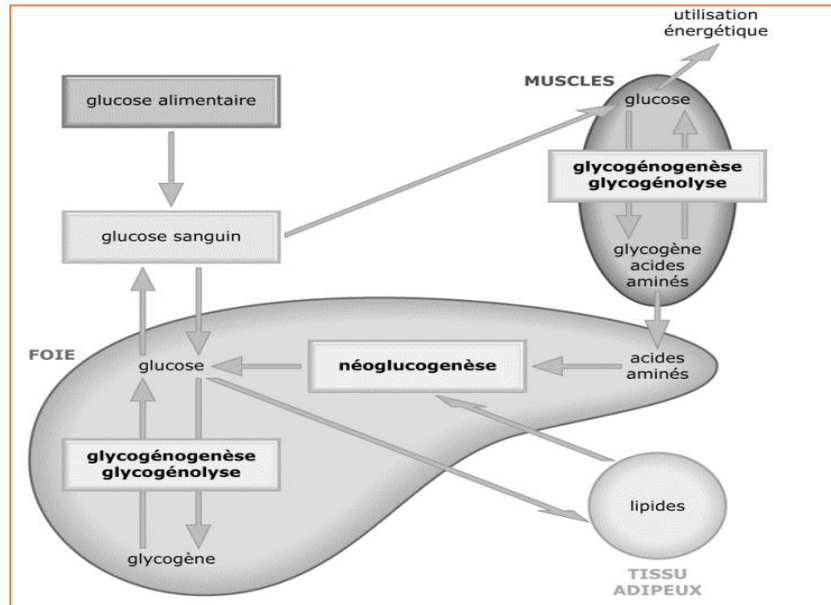


Figure N°04 : Régulation glucidique non hormonale.

✓ La régulation hormonale

Les hormones principales de cette régulation sont :

- **L'insuline** : la seule hormone hypoglycémisante sécrétée par les cellules β des îlots de Langerhans elle agit principalement en inhibant la glycogénolyse et néoglucogenèse et en stimulant la glycogénogenèse et la glycolyse.
- **Le glucagon** : hormone hyperglycémisante produite par les cellules α des îlots de Langerhans son action s'oppose à celle de l'insuline.

Il existe aussi d'autres hormones comme l'adrénaline, le cortisol, l'hormone de croissance, les hormones thyroïdiennes qui ont un effet hyperglycémiant.

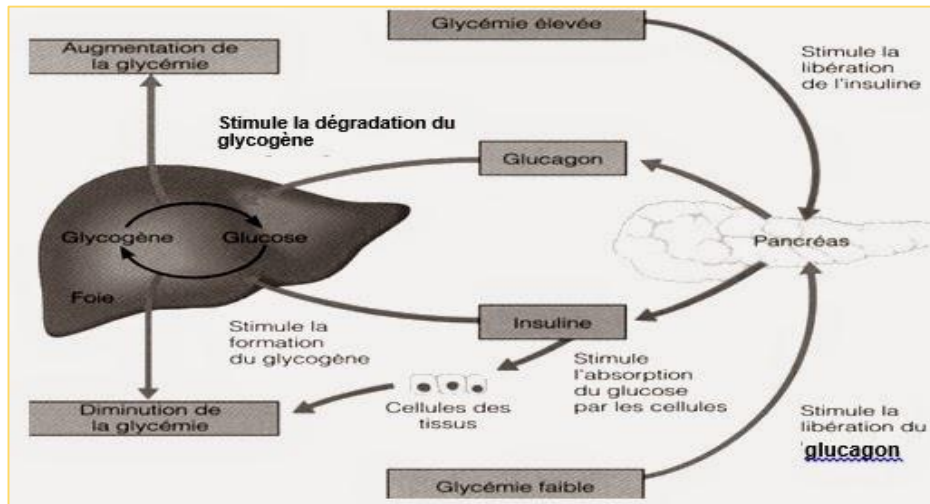


Figure N°05 : Régulation glucidique hormonale.

✓ La régulation nerveuse

Le système sympathique a un rôle crucial pendant les hypoglycémies soudaines en parallèle le système parasympathique intervient pour la coordination des réponses hyper et hypo glycémiques [15].

1.3. Intérêt clinique

La glycémie est le paramètre central dans l'investigation des troubles du métabolisme glucidique notamment pour le dépistage du diabète, il présente aussi un intérêt dans le bilan biologique de certaines affections pancréatiques, surrénaliennes, hypophysaires, thyroïdiennes, aussi dans la surveillance des traitements par les corticoïdes et certains diurétiques [5].

1.4. Variations physiopathologiques

1.4.1. Valeurs normales

Tableau N°01 : Valeurs normales de la glycémie. [16] [17] [18].

Glycémie à jeun	Nouveau-né	Enfant / Adulte
En g/l	0.30-0.6	0.7 - 1.10
En mmol/l	1.66-3.32	3.9-6.1

- L'OMS recommande un taux entre 60 et 100 mg/dl après consensus international [19].
- Valeurs normales du laboratoire du CHU de Tizi-Ouzou : 0.7-1.1 g/l.

1.4.2. Variations physiologiques

- Alcool et tabac qui entraînent une augmentation de la glycémie ;
- Grossesse : diminution progressive jusqu'à la 18^{ème} semaine ;
- Nouveau-né : hypoglycémie néonatale ;
- Taux diminué lors d'un effort prolongé ou un jeûne ;
- Taux augmenté lors d'un stress, d'une surcharge pondérale [19].

1.4.3. Variations pathologiques

- **Hyperglycémie** : glycémie supérieure à 1.10 voir > 1.26 g/l
- Diabète insulino-dépendant (type 1).
- Diabète non insulino-dépendant (type 2).
- Maladies pancréatiques : pancréatite aiguë ou chronique.
- Maladies endocriniennes : phéochromocytome, hypercorticisme, Corticothérapie et hypothyroïdie [19].

- **Hypoglycémie** : glycémie inférieure à 0.5 g/l (selon l'âge)
- Malnutrition ou jeun prolongée ;
- Sécrétion par l'organisme d'un excès d'insuline : insulinome, polyadenomatose ;
- Insuffisances endocriniennes : surrénale, hypophysaire ;
- Troubles hépatiques : hépatite aigue, intoxication alcoolique aigue ;
- Trouble du stockage du glycogène ;
- Hypoglycémie chez les diabétiques : en cas d'effort intense, surdosage en insuline ou hypoglycémiant oraux, prise insuffisante d'hydrate de carbone [19].

1.5. Conditions pré-analytiques

- Le prélèvement se fait après un jeun d'au moins six heures ;
- Le dosage est réalisé sur sang veineux recueilli sur tube sec ou contenant un anticoagulant, l'héparinate de lithium;
- Le glucose est rapidement dégradé dans les tubes par glycolyse, si le dosage n'est pas effectué dans l'heure qui suit le prélèvement il est préférable d'ajouter un inhibiteur de la glycolyse ex : fluorure de sodium [16].

1.6. Méthodes de dosage

- **Les méthodes enzymatiques** (les plus utilisées) : la méthode de la glucose oxydase, le dosage à l'hexokinase et la méthode du glucose déshydrogénase.
- **Les méthodes reductométriques** (abandonnées) : les méthodes au ferricyanure, les méthodes à l'iodomercurate et celles aux ions cuivriques.
- **Les méthodes furfuraliques** (abandonnées) : la méthode à l'anthrone, la méthode de l'aniline et celle à l'ortho-toluidine [5].

2. Les paramètres du bilan hépatique

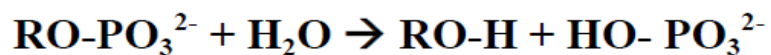
2.1. Phosphatases alcalines (PAL)

2.1.1. Définition

Les phosphatases alcalines ou PAL sont des glycoprotéines membranaires de 170 KDa et requiert du zinc et le magnésium (métallo-enzymes), elles constituent un groupe complexe d'isoenzymes qui catalysent l'hydrolyse des liaisons d'esters phosphoriques en milieu alcalin, elles sont largement distribuées dans différents tissus mais surtout dans le foie au niveau de la membrane canaliculaire qui borde les canalicules biliaires, on les retrouve aussi dans les os , l'intestin, le rein et le placenta [20] [21].

2.1.2. Rôle physiologique

Les phosphatases alcalines catalysent l'hydrolyse d'esters monophosphoriques, elles ont une activité optimale à PH alcalin entre 10 et 11 et libèrent du phosphate permettant ainsi le passage des métabolites à travers les membranes cellulaires suivant cette réaction :



Ces enzymes sont situées sur la membrane cellulaire et sont libérées dans la circulation sanguine lors de l'altération de la structure membranaire. C'est le foie qui assure leur élimination biliaire [21] [22].

2.1.3. Intérêt clinique

La mesure de l'activité enzymatique sérique des phosphatases alcalines est préconisée dans le :

- Diagnostic des affections hépatiques elles sont utilisées comme marqueur de la cholestase [16].
- Diagnostic et suivi des pathologies osseuses.

2.1.4. Variations physiopathologiques**2.1.4.1. Valeurs normales****Tableau N°02 : Valeurs normales des phosphatases alcalines [16], [19].**

Population	PAL (UI/L) SFBC	PAL (UI/L) normes d'un laboratoire européen accrédité ISO15189
Nouveau-né	/	87 – 267
Enfant	≥ 300	117 – 322
Adolescent	≥ 300	M : 85 - 418 F : 56 – 220
Adulte	≤ 120	M : 40 – 130 F : 35 – 105

M : masculin, **F** : féminin

Normes du laboratoire du CHU de Tizi-Ouzou : 45.0-129.0 UI/L

2.1.4.2. Variations physiologiques

L'activité de la PAL dépend de l'âge, l'état physiologique et à moindre degré du sexe.

Une augmentation de l'activité des PAL au cours des grossesses (s'élève de la 20^{ème} semaine à terme, présence PAL placentaire) et au cours de la croissance par le processus d'ossification chez les enfants et les adolescents [19].

2.1.4.3. Variations pathologiques**❖ Augmentation de l'activité :**

- Toutes les affections hépatiques en particulier les maladies cholestasiques qu'elles soient intra-hépatiques ex : cirrhose biliaire ou extra-hépatiques ex : calculs biliaires, aussi au cours de la régénération du parenchyme hépatique ;
- Les maladies osseuses : tumeurs et métastases osseuses, maladie de Paget, consolidation de fracture, ostéomalacie, arthrose, rachitisme ;

- Corticothérapie sur plusieurs jours [19].
- ❖ **Diminution de l'activité** : est observée en cas d'hypothyroïdie, insuffisance hépatique sévère, anémie sévère, scorbut, malnutrition, hypophosphatasemie congenitale [23].

2.1.5 Conditions pré-analytiques

- Le dosage se fait sur sérum ou plasma obtenus à partir de sang veineux recueilli sur tube sec ou hépariné avec le garrot laissé le moins longtemps possible ;
- Les anticoagulants de types oxalate, citrate, fluorure, EDTA, sont à proscrire car ils complexent les cofacteurs métalliques de l'enzyme (Zn et Mg) ;
- Le jeûne n'est pas indispensable mais certains laboratoires l'exigent afin d'éviter une élévation de la PAL intestinale ;
- Eviter les échantillons hémolysés, risque d'augmentation de l'activité par libération des PAL érythrocytaires ;
- Le prélèvement peut être conservé sept jours à une température allant de 2° c à 8° c, ou trois mois à -20° c [16] [19] [20].

2.1.6 Méthodes de dosage

La méthode au phosphate para nitrophényl phosphate (P-NPP) utilisée avec un tampon à ions métalliques, technique colorimétrique avec un substrat dont la déphosphorylation libère un produit coloré, la dégradation du P-NPP et la libération du paranitrophenol est lue au spectrophotomètre à 405 nm [20].

2.2. Gamma glutamyl transférase (GGT)

2.2.1 Définition

La gamma glutamyl transférase est une transpeptidase présente dans les membranes cellulaires de nombreux tissus : le foie, le pancréas, les poumons, l'intestin, la rate, le cœur, le cerveau, les vésicules séminales et le rein. C'est une protéine ectomembranaire constituée de deux sous unités, une lourde et une légère issues d'un même précurseur et séparées par clivage. Le site actif de l'enzyme est situé au niveau de la sous unité légère. La gamma

glutamyl transférase est impliquée dans le métabolisme des acides aminés, sa présence dans les cellules épithéliales suggère qu'elle pourrait avoir un rôle dans le transfert de certains acides aminés au travers de la barrière hémato encéphalique [11] [24].

2.2.2. Rôle, métabolisme et régulation physiologique

2.2.2.1. Rôle

La GGT exerce une activité catalytique dans les réactions de transfert et d'hydrolyse, elle permet le transport membranaire du radical glutamyl mais aussi d'autres acides aminés :



Elle est impliquée dans le cycle du glutathion, la détoxification de nombreux xénobiotiques, aussi dans le métabolisme des leucotrienes [25].

2.2.2.2. Métabolisme et régulation

La gamma glutamyl transférase est synthétisée dans le foie au niveau des hépatocytes sous forme d'un précurseur glycosylé unique, qui est ensuite clivé en deux sous unités dans le réticulum endoplasmique, puis ces dernières seront transférées dans l'appareil de Golgi pour la modification des chaînes oligosaccharidiques, leur périple continue jusqu'à leur arrivée à la membrane.

La GGT est induite par les glucocorticoïdes, les hormones de croissance et les hormones thyroïdiennes, son activité augmente sous l'effet de l'éthanol.

La variation de son action peut être liée à une modification de la glycosylation et un passage de la GGT dans le sang [25].

2.2.3. Intérêt clinique

Le dosage de l'activité de la GGT sert au diagnostic et au suivi des pathologies hépatobiliaires notamment les maladies cholestasiques, cette enzyme est un marqueur de l'alcoolisme chronique [11].

2.2.4. Variations physiopathologiques**2.2.4.1. Valeurs normales****Tableau N°03 : Valeurs normales de la Gamma glutamyl transférase [19] [26].**

Population	Activité GGT (UI/L) à 37 ° c Normes européennes	Population	Activité GGT (UI/L) normes d'un laboratoire européen accrédité ISO15189
0 – 1 mois	10 – 270	1 an	< 79
1 – 2 mois	10 – 160	8 ans	<15
2 – 4 mois	7 – 100	18 ans	M : <20 F : <16
4 – 8 mois	7 – 45	Femme	< 40
Enfant	7 – 27	Homme	< 60
Femme	7 – 35	/	/
Homme	10 – 45	/	/

Normes du laboratoire du CHU de Tizi-Ouzou : 0.0–73.0 UI/L

2.2.4.2. Variations physiologiques

- ✓ **Selon l'âge** : taux plus élevé chez le nouveau-né, chute entre 4 à 14 ans, et remonte après 50 ans.
- ✓ **Selon le sexe** : taux inférieur chez la femme

- ✓ **Selon la charge pondérale :** taux plus élevé chez les gens en surpoids [19]

2.2.4.3. Variations pathologiques

- ✓ **Augmentation de l'activité :**

- Ethylisme chronique ;
- Cirrhose hépatique ;
- Nécrose hépatique ;
- Tumeurs ou cancers hépatiques ;
- Hépatites aiguës et chroniques (virale, microbienne, toxique ou médicamenteuse) ;
- Cholestases hépatobiliaires ;
- Stéatose hépatique ;
- Divers : affections pancréatique, néphropathies, infarctus du myocarde, hyperthyroïdie, transplantations cardiaques et rénales, tumeurs de la prostate, du sein [19] [26].

- ✓ **Diminution de l'activité :**

- au cours des déficits congénitaux.

2.2.5. Conditions pré-analytiques

- Le dosage se fait sur du sérum ou plasma obtenu à partir de sang veineux, recueilli sans anticoagulant ou en présence d'un sel d'héparine ;
- Eviter l'emploi de citrate ou de fluorure à cause de leur pouvoir hémolysant ;
- Le jeûne avant le prélèvement n'est pas obligatoire ;
- Eviter les prélèvements hémolysés qui peuvent causer une erreur de dosage ;
- L'échantillon peut être conservé 7 jours entre 2°C [19].

2.2.6. Méthodes de dosage

- Méthode cinétique enzymatique recommandée par l'IFCC, en présence de glycylglycine, le substrat la L- γ -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide est converti en 5-amino-2-nitro-benzoate qui absorbe à 405 nm [18].

- Méthode immuno-enzymatique à l'aide d'anticorps poly clonaux sur du plasma [28].

2.3. Bilirubine totale et bilirubine directe

2.3.1. Définition

La bilirubine est un pigment de couleur jaune, produit de dégradation de l'hémoglobine après destruction des hématies, mais aussi d'autres hémoprotéines comme les cytochromes, la myoglobine et la catalase. Son catabolisme est assuré par le foie.

Il y a au moins quatre sortes de bilirubine dans le sérum, la bilirubine directe qui correspond à la bilirubine mono et di-conjuguée β et γ bilirubine, ainsi qu'à la fraction δ qui est liée très fortement à l'albumine ; la bilirubine α non conjuguée ou bilirubine indirecte qui est transportée par l'albumine.

La bilirubine totale est la somme de ces différentes formes, pour cette étude, on s'intéressera à la bilirubine totale et la bilirubine directe [11] [12] [29] [30].

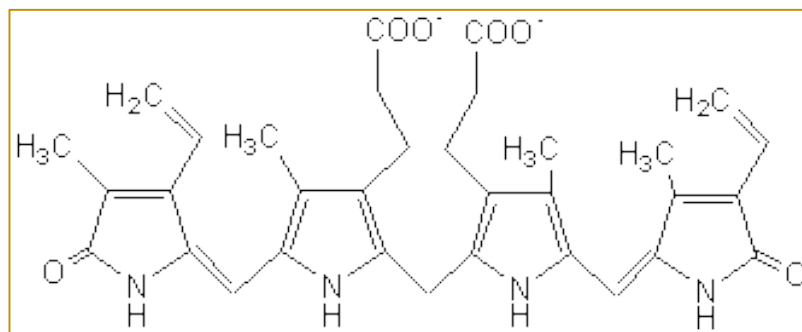


Figure N°06 : Structure chimique de la bilirubine

2.3.2. Métabolisme et régulation physiologique

La bilirubine est le produit du catabolisme de l'hème au niveau de la rate et de la moelle osseuse grâce à deux enzymes l'hème oxygénase microsomales et la bilirubine réductase cytosolique. Elle est transportée dans le sang par l'albumine, après dissociation de cette

dernière, la bilirubine est captée par les hépatocytes où elle est liée à des protéines cytosoliques ex : ligandine.

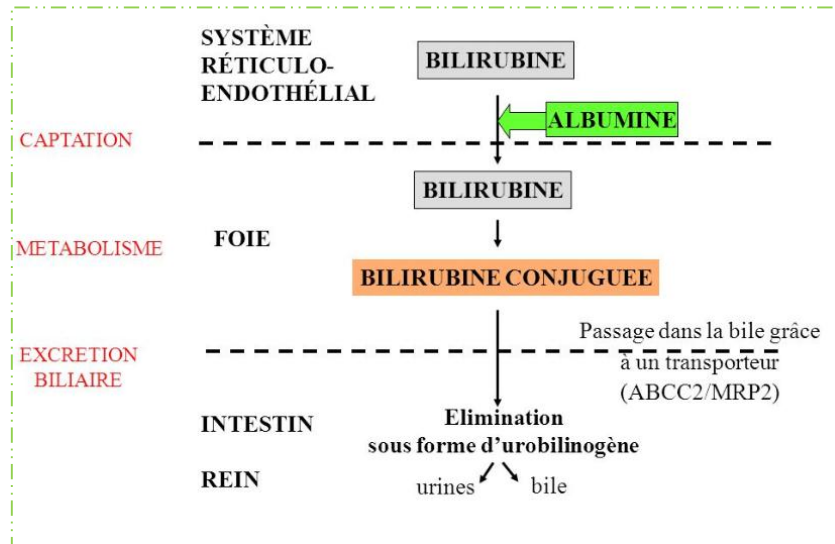


Figure N°07 : Métabolisme de la bilirubine

Pour que la bilirubine soit excrétée dans la bile, une conjugaison avec l'acide glucuronique est impérative grâce à la bilirubine glucuronyl transferase, ce processus aboutit à une forme hydrosoluble facilement éliminée.

La bilirubine est excrétée par la bile dans l'intestin, les bactéries dégradent la bilirubine en urobilinogène dont 80 % sont éliminés dans les selles, ce qui contribue à leur coloration, le restant subit un cycle entero-hépatique pour être éliminé dans les urines [31] [32].

2.3.3. Intérêt clinique

Le dosage de la bilirubine totale est la bilirubine directe trouve son intérêt dans :

- Toutes les maladies hépatobiliaires ;
- La recherche d'une hémolyse devant une anémie régénérative ;
- Chez le nouveau-né : recherche d'un ictère hémolytique par incompatibilité fœto-maternelle ou atresie biliaire [29] [33].

2.3.4. Variations physiopathologiques**2.3.4.1. Valeurs normales**➤ **Bilirubine totale****Tableau N°04 : Valeurs normales de la bilirubine totale.** [19] [26].

Population	Bilirubine totale normes européennes (mg/l)	normes d'un laboratoire européen accrédité ISO15189 (mg/dl)
A la naissance	8 – 25	
1 ^{ère} semaine	25 – 120	
2 ^{ème} semaine	10 – 110	
3 ^{ème} semaine	3 – 30	
4 ^{ème} semaine	3 – 15	
>1mois et adulte	3 – 10	<1.2

Normes du laboratoire du CHU de Tizi-Ouzou (mg/l) : 0.0 –12.0

➤ **Bilirubine directe****Tableau N°05 : Valeurs normales de la Bilirubine directe.** [19], [26]

Population	Normes européennes (mg/l)	normes d'un laboratoire européen accrédité ISO15189 (mg/dl)	Normes du laboratoire du CHU de Tizi-Ouzou (mg/l)
Enfant /adulte	1 – 3	0.05– 0.38	0.0 –3.0

2.3.4.2. Variations individuelles

Les valeurs sont plus élevées chez l'homme et le nouveau-né, on observe une diminution progressive des taux lors des deux premiers trimestres de la grossesse [19].

2.3.4.3. Variations pathologiques

✚ L'hyperbilirubinémie par prédominance de la forme conjuguée ou directe :

- Affections constitutionnelles : syndrome de Dubin Johnson ;
- Cholestase extra-hépatique : calculs biliaires, néoplasie, pancréatite, hépatite, médicaments comme les contraceptifs et érythromycine ;
- Cholestase intra-hépatique : hépatite virale, cirrhose, hépatite toxique ou alcoolique, néoplasie....

✚ L'hyperbilirubinémie à prédominance de la forme non conjuguée ou indirecte :

- Anémie hémolytique : maladie de Minkowski Chauffard, déficit en G6PD, hémoglobinopathies, accidents transfusionnels, hémolyses toxiques ou parasitaires ;
- Déficit en conjugaison : maladie de Gilbert, ictère du nouveau-né, syndrome de Cligler Najjar.

✚ L'hypobilirubinémie :

- Due aux inducteurs enzymatiques : phénobarbital, clofibrate, acide acétyl salicylique [10].

2.3.5. Conditions pré-analytiques

- Prélèvement de sang capillaire pour les enfants ou veineux pour l'adulte ;
- Le dosage se fait sur du sérum ou plasma de tube hépariné non hémolysé ;
- Eviter la stase veineuse et rejeter le prélèvement lorsque le garrot a été mis en place plus d'une minute ;
- Eviter l'exposition à la lumière car la bilirubine est photosensible elle s'oxyde rapidement ;
- En pédiatrie il faut utiliser des flacons ambrés ou enveloppés de papier d'aluminium ;

- Stabilité du prélèvement : 4 à 7 jours 2 – 8 °C [30] [33].

2.3.6. Méthodes de dosage

- Méthode utilisant l'acide sulfanilique diazoté, qui aboutit à un composé qui est l'azobilirubine coloré en milieu très acide ou basique [29].
- Une nouvelle méthode spécifique qui utilise l'enzyme bilirubine oxydase [27].

2.4. Les transaminases

2.4.1. Définition

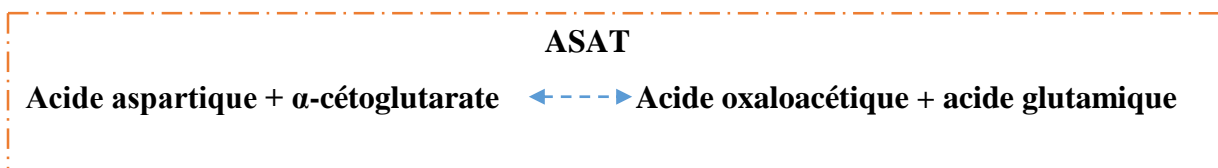
Les transaminases ou aminotransférases sont des enzymes intracellulaires qui catalysent le transfert d'un groupement amine d'un acide aminé à un acide α cétonique, on distingue deux types de transaminases :

L'aspartate aminotransférase ou ASAT est une enzyme glycoprotéique présente dans le cytoplasme et les mitochondries des cellules de plusieurs organes notamment le foie, les muscles, le cœur, les reins, le cerveau et le pancréas, son élévation est le reflet d'une lésion cellulaire et se rencontre dans les maladies cardiaques, les affections hépatobiliaires et les atteintes musculaires.

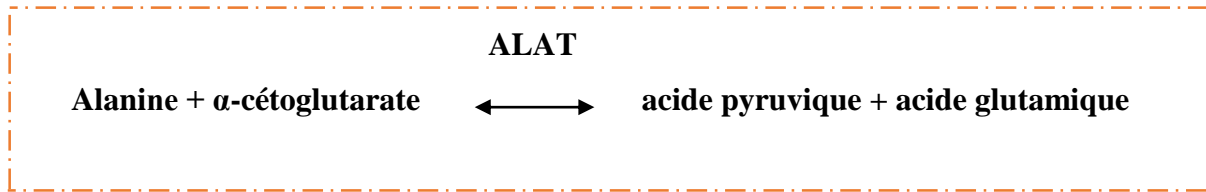
L'alanine aminotransférase ou ALAT est une enzyme cytosolique caractéristique du foie, sa libération dans le domaine extra cellulaire est certainement le signe d'une atteinte hépatique [26] [34] [35].

2.4.2. Rôle

- ✚ **L'aspartate aminotransférase (ASAT) :** elle catalyse le transport d'un groupement amine de l'acide aspartique vers l' α -cétoglutarate : [25]



- ✚ **L'alanine aminotransferase (ALAT) :** elle catalyse le transport d'un groupement amine de l'alanine vers l' α -cétoglutarate : [25]



2.4.3. Intérêt clinique

Le dosage des transaminases trouve son intérêt dans :

- Les pathologies cardiaques (abandonnée): en cas d'infarctus du myocarde, il y a une élévation de l'ASAT, contrairement à l'ALAT qui n'est que peu ou pas augmentée ;
- Les pathologies musculaires : dans certaines myopathies en particulier la dystrophie musculaire progressive type Duchenne qui provoque une élévation de l'ASAT ;
- Les pathologies hépatiques : l'ASAT et l'ALAT sont des marqueurs de souffrance cellulaire et de cytolysse [34].

2.4.4. Variations physiopathologiques

2.4.4.1. Valeurs normales

Tableau N°06 : Valeurs normales de l'ASAT et l'ALAT selon l'SFBC et le DGKC [26]

Population	ALAT (UI/L)		ASAT (UI/L)	
	SFBC à 30° c	DGKC à 37°c	SFBC à 30°c	DGKC à 37°c
Nouveau-né	2 – 20	5 – 35	20 – 70	20 – 80
4 à 14 ans	5 – 30	10 – 35	5 – 30	10 – 35
Homme	5 – 35	10 – 45	5 – 30	10 – 40
Femme	5 – 30	10 – 35	5 – 25	10 – 35

Tableau N°07 : Valeurs normales de l'ASAT et l'ALAT selon un laboratoire européen accrédité 15189 et le laboratoire du CHU de Tizi-Ouzou. [19]

population	normes d'un laboratoire européen accrédité ISO15189 (mg/l)		Normes du laboratoire du CHU de Tizi-Ouzou	
	ALAT (UI/L)	ASAT (UI/L)	ALAT (UI/L)	ASAT (UI/L)
1 an	< 36	< 58		
4 ans	< 25	< 50		
8 ans		< 38		
12 ans	< 22	< 32		
18 ans M	< 25	< 31		
18 ans F	< 21	< 24		
Homme	< 41	< 37		
Femme	<31	< 31	10.0-49.0	0.0-34.0

2.4.4.2. Variations physiologiques

- Des médicaments entraînent une élévation des transaminases ex : anticonvulsivants, contraceptifs oraux, médicaments hépatotoxiques ;
- La surcharge pondérale augmente le taux des transaminases de même que la prise d'alcool ;
- La grossesse et un déficit en vitamine B6 entraînent une diminution des transaminases [19].

2.4.4.3. Variations pathologiques

- ✚ Une augmentation des transaminases de plus de 10 fois la normale :
 - Hépatites virales aiguës ;
 - Hépatites médicamenteuses et toxiques ;

- Ischémie hépatique aigue liée à une attaque cardiaque ;
- Obstruction des voies biliaires.

- ✚ Une augmentation des transaminases entre 2 et 10 fois la normale :
 - Hépatites infectieuse virales ;
 - Autres hépatites infectieuse ex : toxoplasmose ;
 - Atteinte hépatique secondaire ex : lupus, polyarthrite rhumatoïde.

- ✚ Une augmentation prolongée de plus de 6 mois:
 - Stéatose ;
 - Hépatites virales et toxiques chroniques ;
 - Hémochromatose ;
 - Tumeurs hépatiques primaires ou secondaires ;
 - Maladie de Wilson.

On observe une augmentation de l'ASAT au cours des atteintes cardiaques et musculaires ex : infarctus du myocarde et diverses myopathies, dans certains cas l'ALAT suit l'évolution de l'ASAT [19].

2.4.5. Conditions pré analytiques

- Le dosage se fait sur du sérum ou plasma obtenu à partir de sang veineux, recueilli sans anticoagulant ou en présence d'un sel d'héparine ou d'EDTA ;
- Le jeûne n'est pas indispensable ;
- Eviter toute hémolyse car l'activité transaminasique des globules rouges est 10 fois plus importante que celle du plasma ;
- Eviter le dosage après un frisson, un exercice physique ou une injection intramusculaire qui peuvent augmenter les transaminases ;
- Le prélèvement peut être conservé 7 jours entre 2 et 8 °c [16] [19] [36].

2.4.6. Méthodes de dosage

Dosage par méthode cinétique UV de l'activité enzymatique des transaminases en suivant la disparition du NADH à 340 nm par spectrophotométrie [27].

3. Les paramètres du bilan lipidique

LIPID PROFILE			
	DESIRABLE	BORDERLINE	HIGH RISK
Cholesterol	<200 mg/dl	200-239 mg/dl	240 mg/dl
Triglycerides	<150 mg/dl	150-199 mg/dl	200-499 mg/dl
HDL cholesterol	60 mg/dl	35-45 mg/dl	<35 mg/dl
LDL cholesterol	60-130 mg/dl	130-159 mg/dl	160-189 mg/dl

Figure N°08 : Limites du profil lipidique souhaitables.

3.1. Cholestérol total**3.1.1. Définition**

Le cholestérol est un stérol à 27 carbones dérivé de l'isoprène qui intervient dans divers processus biochimiques, c'est l'un des éléments indispensables au maintien de la structure et de la fonction de la membrane cellulaire, le cholestérol provient pour une part des aliments mais il est aussi synthétisé par l'organisme principalement dans foie mais aussi l'intestin, les surrénales et les gonades. Dans le sang il est transporté par des protéines à 70 % par les lipoprotéines de basse densité LDL. Le cholestérol circulant est catabolisé au niveau du foie par conversion en sel biliaires et stéroïdes neutres éliminés avec la bile [16] [36] [37].

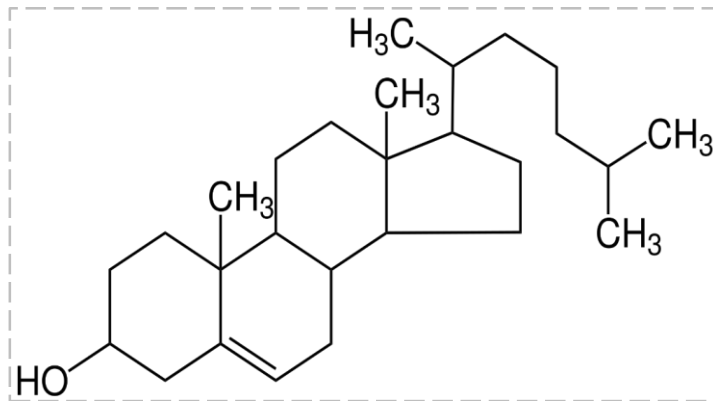


Figure N°09 : Structure chimique du cholestérol

3.1.2. Rôle, métabolisme et régulation physiologique

3.1.2.1. Rôle

Le cholestérol est l'un des éléments les plus importants de l'organisme humain :

- ✓ Composant majeur des membranes cellulaires, il contribue à leur fonction, leur stabilité et au maintien de leur structure ;
- ✓ Tampon thermique, à 37°C il limite le mouvement des phospholipides, à des températures plus basses il empêche l'entassement des phospholipides ;
- ✓ Dans les neurones il permet la synthèse des neurotransmetteurs par exocytose et donc la propagation de l'efflux nerveux ;
- ✓ Précurseur de nombreuses molécules comme les hormones stéroïdiennes, la vitamine D, et des sels biliaires [11].

3.1.2.2. Métabolisme et régulation physiologique

La biosynthèse du cholestérol utilise comme élément de départ l'Acétyl CoA, on peut la subdiviser en quatre étapes majeures :

- a) Formation du mévalonate : condensation de trois structures à deux carbones, Acétyl CoA ;
- b) Passage du mévalonate à l'isopentényl-diphosphate par décarboxylation. C'est l'isoprène actif ;

- c) Biosynthèse du farnésyl-diphosphate et dimérisation en squalène ;
d) Cyclisation du squalène en lanostérol et transformation en cholestérol.

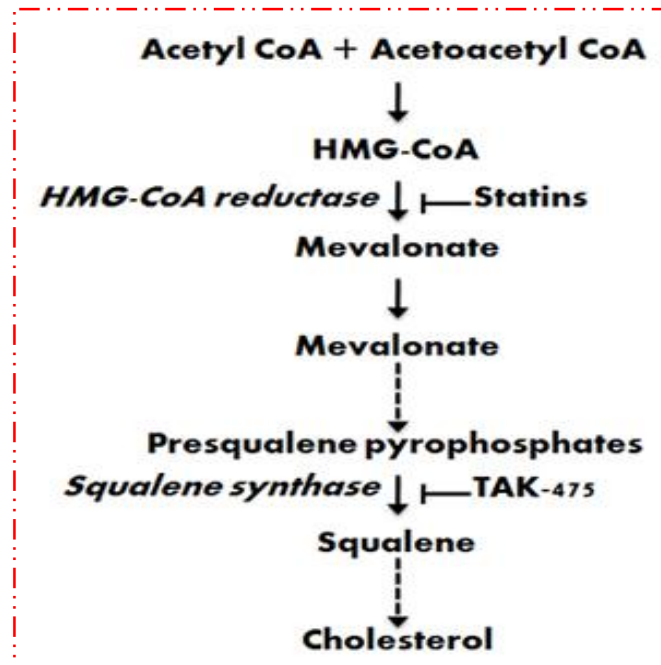


Figure N°10 : Schéma simplifié de la biosynthèse du cholestérol

La production du cholestérol est régulée par sa concentration intracellulaire et par certaines hormones, l'étape limitante de cette synthèse est le passage du HMG-CoA en mévalonate, catalysée par HMG-CoA réductase.

L'enzyme existe sous deux formes inter-convertibles : une forme phosphorylée inactive et une forme déphosphorylée active. L'insuline et la thyroxine stimulent cette réductase alors que le glucagon l'inhibe.

Les taux de cholestérol et de ses métabolites contrôlent sa biosynthèse par :

- Rétro-inhibition de l'activité de l'HMG-CoA réductase ;
- Diminution de la quantité de l'HMG-CoA réductase par réduction de la synthèse et la traduction des ARNm ou par augmentation de sa vitesse de dégradation.

Le cholestérol est dégradé dans le foie en acides biliaires par la 7α hydroxylase, ces derniers sont éliminés dans la bile [37].

3.1.3. Intérêt clinique

Le dosage du cholestérol permet de dépister une hypercholestérolémie isolée ou associée à une hypertriglycéridémie, considéré comme un facteur majeur de formation de l'athérosclérose, il est utilisé pour l'évaluation du risque cardiovasculaire. Toutefois son dosage est effectué aussi pour une exploration hépatique et le suivi de certains traitements comme la corticothérapie [16].

3.1.4. Variations physiopathologiques**3.1.4.1. Valeurs normales**

Tableau N°08 : Les valeurs normales du cholestérol total selon les normes européennes [26]

Age	Homme		femme	
	mmol/l	g/l	mmol/l	g/l
0 – 14	4.13-5.81	1.60-2.25	4.13-5.68	1.60-2.20
15 – 19	3.87-5.55	1.50-2.15	3.87-5.42	1.50-2.10
20 – 44	3.35-5.95	1.30-2.30	4.00-6.20	1.55-2.40
45 – 59	3.48-6.45	1.35-2.50	4.00-6.58	1.55-2.55
>60	3.61-6.86	1.40-2.65	3.61-6.86	1.40-2.65

Tableau N°09 : Les valeurs normales du cholestérol total selon les normes américaines [38]

Population	Optimale (g/l)	Intermédiaire (g/l)	Elevé (g/l)
Enfant	≤ 1.70	1.70-1.99	> 1.99
Adulte	≤2.00	2.00-2.39	> 2.39

Valeurs normales selon le laboratoire du CHU de Tizi-Ouzou : 1.5 et 2.0 g/l.

3.1.4.2. Variations physiologiques

- Age ;
- Sexe : taux inférieurs chez la femme avant ménopause ;
- Cycle menstruel : variation pouvant atteindre 20 % ;
- Nyctémère : plus bas pendant la nuit ;
- Habitudes alimentaires [19].

3.1.4.3. Variations pathologiques**✚ Hypocholestérolémie primitives :**

- Affection familiale ex : déficit en LCAT.
- HypoAlpha lipoprotéïnémie : déficit ApoAI, maladie Tanger
- HypoBeta lipoprotéïnémie

✚ Hypocholestérolémie secondaires :

- Malnutrition ;
- Insuffisance hépatocellulaire ;
- Hyperthyroïdie ;
- Pathologies infectieuses, cancéreuses ;

✚ Hypercholestérolémie primitives :

- Dyslipémies familiales primitives ;

✚ Hypercholestérolémie secondaires

- Hypothyroïdie ;
- Pancréatite ;
- Syndrome néphrotique ;
- Myélome ;
- Cholestase ;
- Corticothérapie ;
- Syndrome de Cushing [19].

3.1.5. Conditions pré-analytiques

- Le dosage se fait sur du sérum ou plasma obtenu à partir de sang veineux recueilli sans anticoagulant ou en présence de sel d'héparine ou encore de l'EDTA, ne pas utiliser de citrate, oxalate ou fluorure ;
- Le dosage du Chol se fait dans le cadre du Bilan Lipidique (Chol, Tg, HDL, LDL) ; Un jeûne de 12 heures est indispensable avant le prélèvement ;
- Conservation du prélèvement pendant 7 jours entre 2 et 8 °c [19].

3.1.6. Méthodes de dosage

- ✓ Méthodes enzymatiques qui utilisent une cholestérol estérase et une cholestérol oxydase, les divers techniques enzymatiques diffèrent par le dosage de l'eau oxygénée obtenue :
 - Technique avec peroxydase et chromogène phénolique ;
 - Technique avec peroxydase et chromogène non phénolique ;
 - Technique avec catalase et chromogène ;
 - Technique par spectrorélectométrie avec chromogène phénolique.
- ✓ Méthodes chromatographiques par chromatographies en phase gazeuse suivie d'une mesure par spectrométrie de masse [39].

3.2. Triglycérides

3.2.1. Définition

Les triglycérides, autrefois appelés glycérides ou encore graisses neutres sont des lipides composés de trois molécules d'acide gras reliées à une molécule de glycérol, ils ont une double origine : exogène venant des aliments et endogène par synthèse principalement hépatique, c'est la forme la plus importante de stockage des lipides de réserve et servent de vecteur au transport de l'énergie sous forme d'acides gras. Les triglycérides sont insolubles dans l'eau donc retrouvés au niveau des tissus adipeux et sont véhiculés dans le sang associés aux lipoprotéines [11] [36] [37].

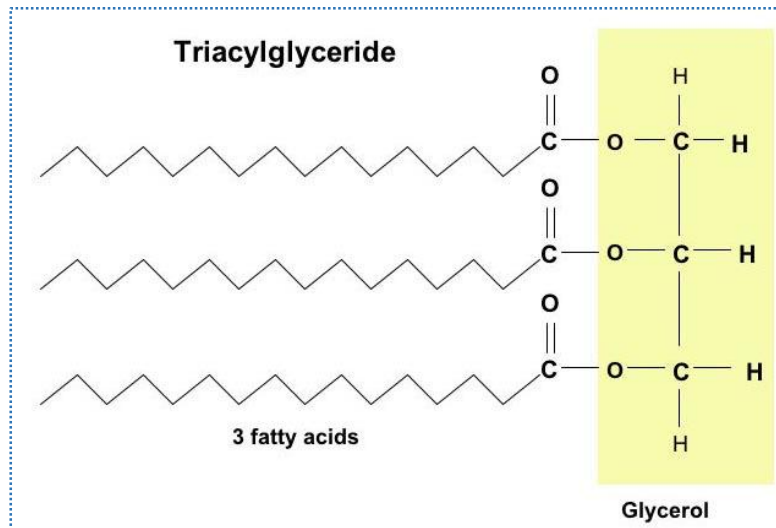


Figure 11 : Structure chimique des triglycérides

3.2.2. Rôle, métabolisme et régulation physiologique

3.2.2.1. Rôle principal

Les triglycérides ont un rôle fondamental sachant qu'ils sont une réserve d'énergie très importante, énergie grâce aux acides gras, réserve grâce au glycérol, le tout stocké dans les cellules adipeuses [11].

3.2.2.2. Métabolisme et régulation physiologique

La synthèse des triglycérides se fait à partir des substrats suivant :

- Les acides gras activés sous forme d'acyl-CoA réaction catalysée par l'acylCoA synthase ;
- Les glycérols activés : au niveau des entérocytes, le 2-monoglycéride issu de l'hydrolyse des triglycérides alimentaires par lipase pancréatique ;
- Au niveau du foie, des tissus adipeux et des muscles à partir du glycérol-3-phosphate qui a deux origines : soit par réduction du DHAP ou par phosphorylation du glycérol.

Cette synthèse est orientée par les besoin de l'organisme en lipides, aussi par régulation hormonale à l'aide de la lipase hormonosensible LHS qui est une l'enzyme clé du métabolisme des TG.

Le catabolisme des triglycérides est effectué par trois enzymes différentes qui sont : la lipase pancréatique, la lipoprotéine lipase et la triglycéride lipase hormonosensible [40].

3.2.3. Intérêt clinique

Le dosage des triglycérides est prescrit dans le cadre d'un bilan lipidique pour évaluer le risque cardiovasculaire sachant qu'ils constituent l'un des facteurs de risque de la formation des plaques d'athérome, le dosage est préconisé aussi en cas de suspicion d'un diabète [26].

3.2.4. Variation physiopathologiques

3.2.4.1 Valeurs normales

Tableau N°10 : Valeurs normales des triglycérides selon les normes européennes [26].

Age (ans)	Triglycérides g/l Homme	Triglycérides g/l Femme
0 – 4	0.30 – 1.00	0.30 – 1.05
4 – 10	0.30 – 1.05	0.35 – 1.10
10 – 15	0.30 – 1.30	0.35 – 1.35
15 – 20	0.35 – 1.50	0.40 – 1.30
Adulte	0.45 – 1.75	0.35 – 1.40
>70	0.45 – 1.50	0.30 – 1.20

Tableau N°11 : Valeurs normales des triglycérides selon les normes américaines [41].

Age(ans)	Triglycérides mg/dl	Triglycérides mmol/l
0 – 9	<75	<0.85
10 – 19	<90	<1.02
>19	<115	<1.30
adulte	<150	<1.7

Valeurs normales selon le laboratoire du CHU de Tizi-Ouzou : 0.35-1.5 g/l.

3.2.4.3. Variations physiologiques

- ✓ Age : des taux plus bas chez le nouveau-né et les personnes âgées ;
- ✓ Sexe : valeurs plus élevées chez les hommes ;
- ✓ Elévation du taux au cours de la grossesse, ou prise des contraceptifs oraux ;
- ✓ Une augmentation du taux des triglycérides est observée en cas d'obésité, de prise d'alcool ou de tabac aussi en cas d'alimentation riche en carbohydrates [19].

3.2.4.4. Variations pathologiques

- ✓ **Hypertriglycéridémie**
 - Hypertriglycéridémie primitive ;
 - Hyper-uricémie ;
 - Insuffisance rénale ;
 - Diabète ;
 - Infarctus du myocarde.
- ✓ **Diminution du taux de triglycérides**
 - Syndrome de malabsorption ;
 - Hyperthyroïdie [19].

3.2.5. Conditions pré-analytiques

- Le dosage se fait sur du sérum ou plasma obtenu à partir de sang veineux recueilli sans anticoagulant ou en présence de sel d'héparine ou encore de l'EDTA ;
- Un jeûne de 12 heures est indispensable avant le prélèvement ;
- Conservation du prélèvement pendant 7 jours entre 2 et 8 °c. [19]

3.2.6. Méthodes de dosage

- La méthode enzymatique colorimétrique du glycérol libéré après action de la lipase, la lecture colorimétrique est effectuée à 500 nm, la coloration du Formazan formé est proportionnelle à la concentration de triglycérides ;
- Dosage enzymatique à l'oxydase-peroxydase, formation d'une quinone imine colorée, la lecture s'effectue à 540 nm ;
- Dosage enzymatique par spectroréflexométrie effectuée sur un support solide [39].

3.3. HDL-cholestérol

3.3.1. Définition

HDL ou lipoprotéines de haute densité sont des lipoprotéines dont la densité est comprise entre 1.063 et 1.26, elles sont composées de 48% de lipides et 52% de protéines. L'ultracentrifugation permet d'en distinguer les différents sous types HDL2b, 2a, 3b, 3c avec un contenu protéique différent, la protéine la plus importante quantitativement est l'Apo A1 mais on compte aussi l'Apo A2, E et C.

L'HDL est responsable du transport du cholestérol vers le foie où il pourra être éliminé ce qui permet d'éviter son accumulation dans les vaisseaux sanguins et donc de diminuer le risque de formation des plaques d'athérome [11].

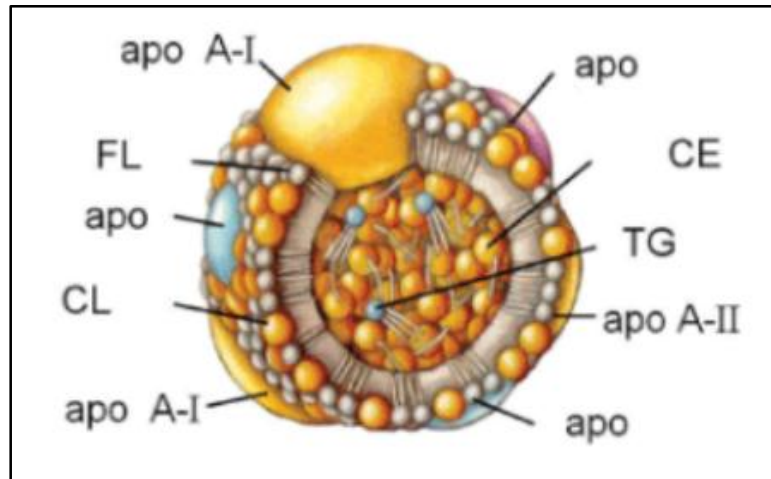


Figure N°12 : Structure de l'HDL-cholestérol

3.3.2. Rôle, métabolisme et régulation physiologique

3.3.2.1. Rôle

- ✓ L'HDL constitue pour l'organisme un réservoir des apoprotéines A, C, E et transfèrent aux chylomicrons et aux VLDL l'Apo C II activatrice de la LPL ;
- ✓ L'HDL capte le cholestérol libre en excès des tissus périphériques stimulant la LCAT qui permet l'estérification du cholestérol qui devient hydrophobe et est ainsi piégé dans l'HDL ;
- ✓ Ainsi les HDL jouent un rôle de régulateur sur l'excès du cholestérol périphérique et facilitent le métabolisme des VLDL et des LDL [11] [37].

3.3.2.2. Métabolisme et régulation

Les lipoprotéines de haute densité d'origine à la fois intestinale et hépatique et produit du métabolisme des chylomicrons et des VLDL peuvent être divisées en quatre catégories selon leurs densités HDL1, HDL2, HDL3, et les lipoprotéines de très haute densité VHDL. L'HDL2 et l'HDL3 sont les plus importantes et correspondent aux principales étapes métaboliques.

Les HDL naissantes ont une forme discoïde, formées d'apolipoprotéines et de phospholipides essentiellement des phosphatidylcholines, elles acquièrent une forme sphérique après s'être

chargé en cholestérol qui joue le rôle de structurant car elles fonctionnent comme des accepteurs de cholestérol libre déposé à la surface des membranes cellulaires.

Les HDL circulantes sont reprises par le foie par endocytose médiée par des récepteurs spécifiques, les esters de cholestérol sont hydrolysés et ce dernier peut être recyclé dans d'autres lipoprotéines ou utilisé à d'autres fins ou encore éliminé sous forme de sels biliaires [37].

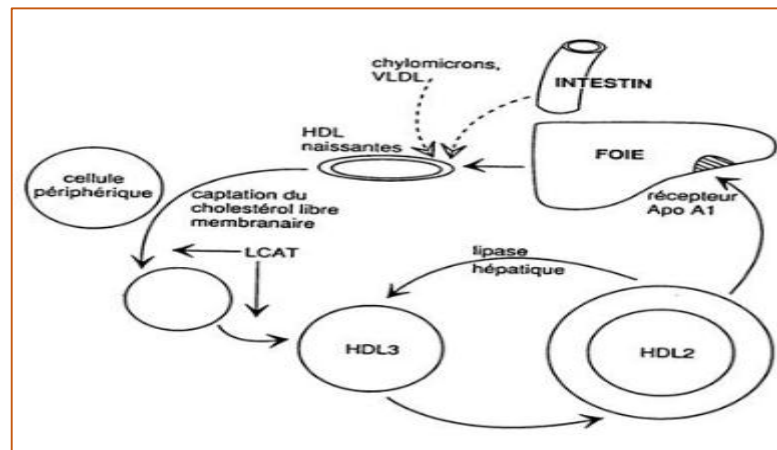


Figure N°13 : Métabolisme de l'HDL cholestérol

3.3.3. Intérêt clinique

Il est admis que le cholestérol des HDL constitue la fraction protectrice du cholestérol car il existe une relation inverse entre la concentration en HDL-C et la fréquence des complications cardiovasculaires, leur dosage est effectué dans le cadre d'un bilan lipidique ou pour le suivi des dyslipidémies [16].

3.3.4. Variations physiopathologiques**3.3.4.1. Valeurs normales [26] [19]****Tableau N°12 : Les valeurs normales de l'HDL cholestérol selon les normes européennes**

Age	Femme (g/l)	Homme (g/l)
<4 ans	0.12-0.37	0.16-0.5
5 – 9 ans	0.31-0.47	0.41-0.6
10 – 14 ans	0.31-0.47	0.43-0.63
15 – 19 ans	0.31-0.47	0.45-0.7
20 – 49 ans	0.37-0.65	0.5-0.82
50 – 59 ans	0.42-0.65	0.58-0.92
>60 ans	0.40-0.68	0.6-0.94

Tableau N°13 : Les valeurs normales de l'HDL-cholestérol selon les normes d'un laboratoire européen accrédité ISO 15189.

Population	HDL mg/dl
Homme	>40
Femme	>50

Valeurs normales selon le laboratoire du CHU de Tizi-Ouzou : 0.5-0.8 g/l.

3.3.4.2. Valeurs physiopathologiques

✚ Diminution des HDL :

- Surcharge pondérale et diabète sucré ;
- Tabagisme ;
- Hyperthyroïdie ;
- Dyslipidémies.

✚ Augmentation des HDL :

- Prise de médicaments hypolipémiants, antiépileptiques et insuline ;
- Consommation d'alcool ;
- Elévation des HDL en fonction de l'âge et le sexe, valeur élevée chez la femme ;
- Augmentation du taux des HDL en cas de régime pauvre en cholestérol et riche en acides gras et activité physique régulière [19] [26].

3.3.5. Conditions pré-analytiques

- Le dosage se fait sur du sérum ou plasma obtenu à partir de sang veineux recueilli sans anticoagulant ou en présence de sel d'héparine ;
- Un jeûne de 12 heures est indispensable avant le prélèvement ;
- Conservation du prélèvement pendant 7 jours entre 2 et 8 °c [19].

3.3.6. Méthodes de dosage

- Méthode par précipitation avec le phosphotungstate de sodium et chlorure de magnésium ;
- Méthode à l'alpha cyclo dextrine ;
- Dosage aux poly anions détergents ;
- Dosage aux anticorps anti beta lipoprotéines [39].

3.4. LDL-cholestérol

3.4.1. Définition

Les lipoprotéines de basse densité sont un groupe de lipoprotéines de type et tailles variables, leur densité est comprise entre 1.006 et 1.063, elles sont composées de 78% de lipides et 22% de protéines et produites par le foie à partir des VLDL. Les LDL portent des apolipoprotéines B100, une monocouche de phospholipides des triglycérides et des vitamines liposolubles antioxydantes Vitamine E et caroténoïdes, leur fonction est le transport du cholestérol libre ou estérifié dans le sang et à travers l'organisme pour le distribuer aux tissus cibles [11] [37].

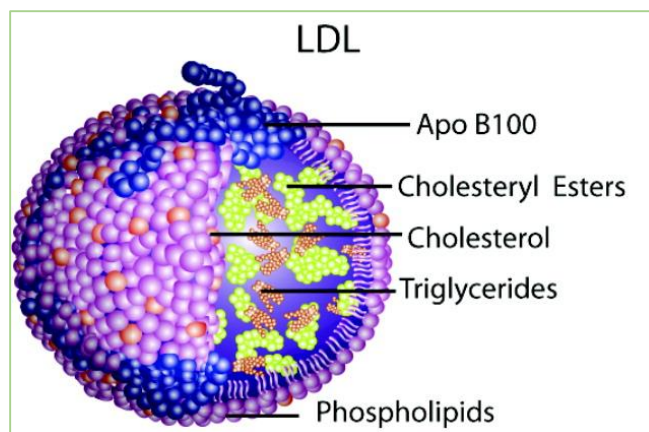


Figure N°14 : Structure de l'LDL Cholestérol

3.4.2. Rôle, métabolisme et régulation physiologique

3.4.2.1. Rôle

Les LDL permettent le transport de divers substances : triglycérides, cholestérol, vitamines liposolubles A, D, E, K jusqu'aux tissus périphérique pour être utilisées par les cellules cibles [11].

3.4.2.2. Métabolisme et régulation physiologique

Le foie est le principal lieu de synthèse du cholestérol et des TG. Afin de faire parvenir ces lipides aux tissus périphériques, il synthétise des lipoprotéines les chylomicrons et les VLDL (riches en Triglycérides, CE, apo E, apo CII et apo B100) qui sont sécrétés dans le sang. Comme les chylomicrons, les VLDL se restructurent en IDL (qui contiennent de l'apo E, apo B100, du cholestérol esterifié et des triglycérides) et en HDL (apo AI, apo CII, CL, PL). La majorité des IDL sont captés par le foie par des récepteurs capables de reconnaître l'apo E et l'apo B. La fraction restante perd son apo E et est hydrolysée par la lipase hépatique qui libère des acides gras et du glycérol à partir des triglycérides et forme des LDL (plus petite et relativement plus riche en cholestérol esterifié et ne possédant plus que l'apo B100).

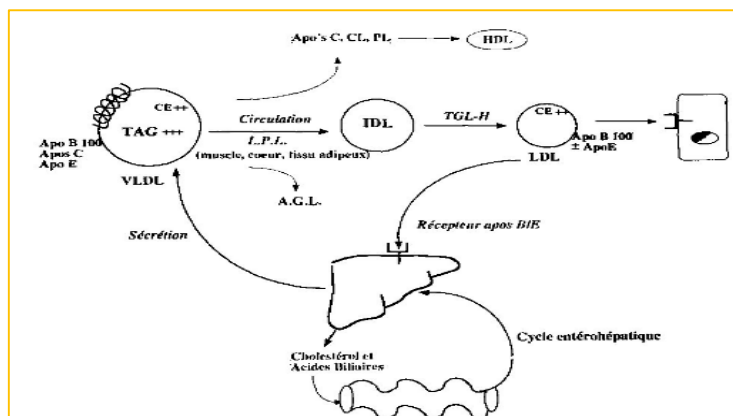


Figure 15 : Métabolisme des VLDL et LDL

Ces LDL sont captés par les tissus périphériques et par le foie grâce aux récepteurs à l'apo B100 et libèrent leur cholestérol.

Certains LDL sont oxydés, ils ne peuvent plus être reconnus par les récepteurs à l'apo B100 et sont alors captés par les macrophages (récepteurs éboueurs (scavenger)) qui se transforment en cellules spumeuses et sont à la base de l'athérosclérose [11] [37] [42].

3.4.3. Intérêt clinique

Des taux importants de LDL plasmatiques conduisent généralement au dépôt de cholestérol dans la paroi des artères sous forme de plaque d'athérome, elles sont donc un facteur de risque des maladies cardiovasculaires. Il est ainsi admis que le LDL-C constitue la fraction délétère du cholestérol, le dosage des LDL-C est effectué dans le cadre d'un bilan lipidique et aussi pour le suivi des dyslipidémies [16].

3.4.4. Variations physiopathologiques**3.4.4.1. Valeurs normales**

Tableau N°14 : Les valeurs normales de l'LDL-cholestérol selon les normes européennes [26]

Population	LDL-C (g/l)
Homme	1.10 – 1.60
Femme	1.00 – 1.50

Tableau N°15 : les valeurs normales de l'LDL cholestérol selon les normes américaines [41]

Population	LDL-C (mg/dl)
Enfant	< 110
Jeune adulte	< 120
Adulte	< 120

Valeurs normales selon le laboratoire du CHU de Tizi-Ouzou : 0.0-1.6 g/l.

Remarque : Les valeurs cibles optimales du LDL-cholestérol sont définies pour chaque individu et dépendent du nombre de facteurs de risques présents.

3.4.4.2. Valeurs physiopathologiques

✚ Taux de cholestérol LDL élevé :

- L'âge, notamment chez les femmes de plus de 60 ans et chez les hommes de plus de 50 ans ;
- Des antécédents familiaux de maladie coronaire précoce : infarctus du myocarde ou mort subite ;
- Un diabète de type 2 traité ou non ;
- Un taux de cholestérol HDL inférieur à 0,4 g/l ;
- Une hypothyroïdie ;
- Une alimentation riche en graisses : la sédentarité ;
- L'alcool et certains médicaments ex : pilules contraceptives ;
- Des maladies athéromateuses et les hyperlipoprotéïnémies de type IIa, IIb, III [26].

3.4.5. Conditions pré-analytiques

- Le dosage se fait sur du sérum ou plasma obtenu à partir de sang veineux recueilli sans anticoagulant ou en présence de sel d'héparine ;
- Un jeûne de 12 heures est indispensable avant le prélèvement ;
- Conservation du prélèvement pendant 7 jours entre 2 et 8 °c [19].

3.4.6. Méthodes de dosage

- Méthode semi-automatisée de dosage direct du LDL cholestérol par quantification enzymatique en gel d'électrophorèse [43] ;
- Le dosage par précipitation sélective des LDL ;
- La formule de Friedewald permet de calculer le taux de LDL à condition que les triglycérides soient inférieurs à 3.5 g/l [39].

$$\text{Chol-LDL} = \text{chol total} - (\text{chol HDL} + \text{TG}/5) \text{ en g/l}$$

PARTIE

II

PARTIE PRATIQUE

**MATERIELS
ET METHODES**

1. Caractéristique de l'étude

L'étude a été réalisée du 26 Décembre 2016 au 12 Avril 2017, qui a pour objectif la vérification des valeurs de référence selon la procédure CLSI IFCC et un essai de leurs établissements, ceci pour les paramètres : glycémie, bilan hépatique et lipidique. Cette étude a été effectuée chez des femmes adultes présumées saines résidentes aux différentes régions de Tizi-Ouzou et Bouira.

Nous avons réalisé notre étude au niveau du laboratoire central de biochimie, du centre hospitalo-universitaire « Nedir Mohamed », structure sanitaire située au centre-ville de Tizi-Ouzou.

2. Population de l'étude

Notre travail a concerné une population féminine constituée de 133 femmes adultes présumées saines et sans antécédents personnels, âgées de 18 à 75 ans, 116 résidentes à Tizi-Ouzou et 17 à Bouira. La sélection s'est basée sur des critères d'inclusion et d'exclusion.

2.1. Echantillonnage

Nous avons utilisé une technique d'échantillonnage directe basée sur une sélection à priori, la sélection a été mise en place avant le prélèvement sur des critères bien définis.

➤ Critères d'inclusion à l'étude :

Est incluse dans l'étude toute femme :

- ❖ Adulte âgée de 18 à 75 ans en apparente bonne santé et sans antécédents personnels ;
- ❖ A jeun depuis au moins 12 heures ;
- ❖ Ayant donné son consentement éclairé pour participer à l'étude.

➤ Critères d'exclusion de l'étude :

Est exclus de l'étude :

- ❖ Tout sujet male ;
- ❖ Les femmes ayant une pathologie chronique ou aigue avec ou sans traitement ;
- ❖ Les femmes ayant pris des médicaments dans les dix jours précédents le prélèvement ;

- ❖ Les femmes étant dans des états physiologiques particuliers : grossesse, allaitement, sportives après un exercice important ;
- ❖ Les femmes atteintes de déviation ou de facteurs de risque : surcharge pondérale, alcoolisme, tabagisme.

2.2. Description de la population

❖ Distribution de la population d'étude selon la région

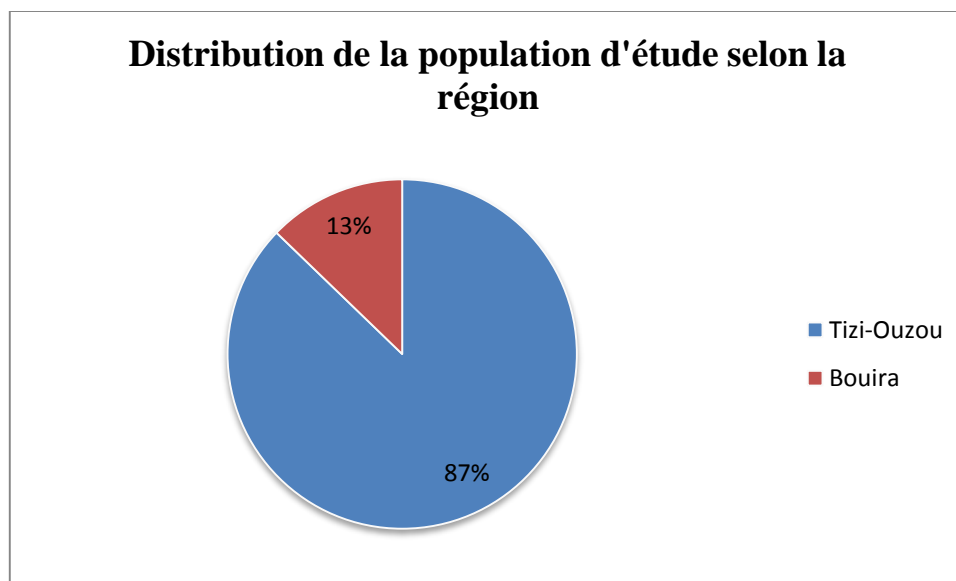


Figure N°16 : Distribution de la population d'étude selon la région.

D'après la figure, nous remarquons une différence concernant la localisation géographique de la population d'étude, avec la dominance des femmes de Tizi Ouzou.

❖ **Distribution de la population d'étude selon l'âge**

Le tableau suivant apportera plus de précision sur la répartition de la population d'étude selon l'âge.

Tableau N°16 : Répartition de la population d'étude selon l'âge.

Tranche d'âge	Nombre d'effectif	Pourcentage%
[18-25[27	20.30
[25-35[34	25.56
[35-45[26	19.55
[45-55[18	13.53
[55-65[21	15.79
[65-75[7	5.26
Total	133	100

D'après ce tableau, on constate que les femmes de la tranche d'âge [25-35[ans sont les plus nombreuses et représentent 25.56 % de l'effectif total, contrairement aux femmes de la tranche d'âge [65-75[ans qui représentent seulement 5.26% de la population d'étude, cela est dû à la survenue des pathologies chroniques fréquentes dans cette tranche d'âge et qui constituent pour notre étude un critère d'exclusion.

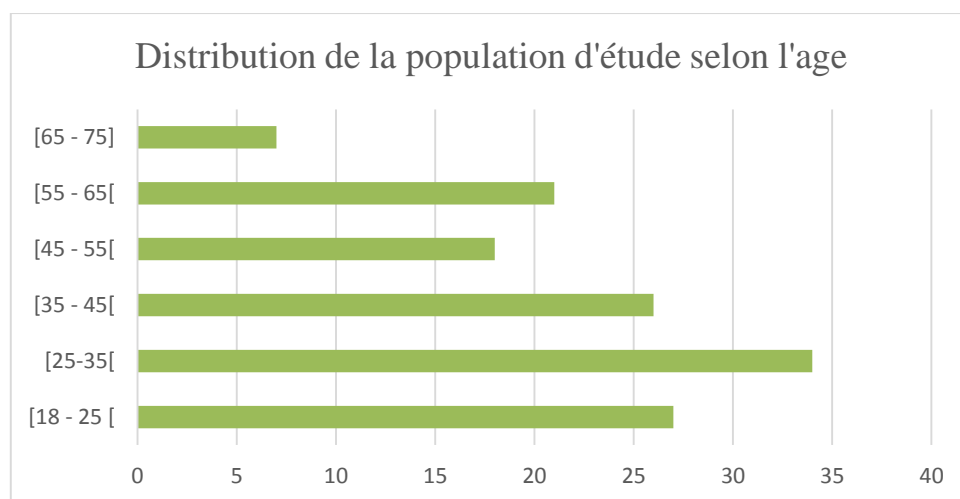


Figure N°17 : distribution de la population d'étude selon l'âge

❖ Distribution de la population d'étude selon le tour de taille

Le tableau suivant apportera plus de précision sur la répartition de la population d'étude selon le tour de taille.

Tableau N°17: Distribution de la population d'étude selon le tour de taille.

Tour de taille	Nombre d'effectif	Pourcentage %
[65-75[29	21.81
[75-85[58	43.61
[85-95[34	25.56
[95-107[12	9.02
Total	133	100

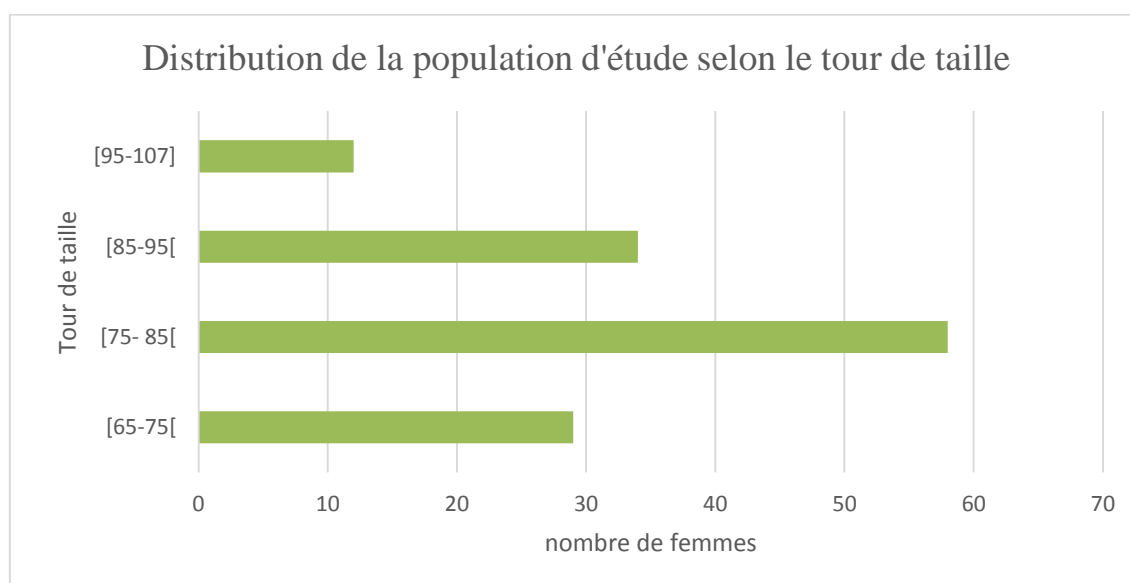


Figure N°18 : Distribution de la population d'étude selon le tour de taille.

3. Matériel Biologique (Nature du prélèvement)

Nous avons opté pour la ponction veineuse au pli du coude car elle convient aux paramètres étudiés : glycémie, bilan hépatique et lipidique. Le sang est recueilli sur tube sec de 5 ml sans anticoagulant. Les échantillons ont été centrifugés 15 à 30 minutes après le prélèvement, afin de récolter le sérum, spécimen préconisé pour notre étude.

4. Matériels techniques

4.1. Le consommable : Nous avons utilisé :

Pour réaliser le prélèvement sanguin :

- ✓ Une fiche de renseignement (Annexe) ;
- ✓ Un antiseptique local : éthanol ;
- ✓ Coton ;
- ✓ Garrot ;
- ✓ Epicrânienne G20 ;
- ✓ Tubes de prélèvement sans anticoagulant et bouchons ;
- ✓ Gants ;
- ✓ Sparadrap ;
- ✓ Etiquettes.

Pour le traitement de l'échantillon :

- ✓ Un portoir ;
- ✓ Un agitateur manuel et solution de nettoyage : eau et eau de javel ;
- ✓ Micropipette 100µl et embouts ;
- ✓ Bande à gaze ;
- ✓ Tubes secs, bouchons et étiquettes.
- ✓ Substitut d'ordonnance (Annexe).

4.2. Appareillage et réactifs

4.2.1. ADVIA 1800 (Siemens)

➤ Description du système

Le système de biochimie ADVIA[®]1800 est un analyseur biochimique clinique automatisé qui permet d'effectuer des analyses de sérum, de plasma ou d'urine d'origine humaine en mode d'accès aléatoire, échelonné et urgent, avec un rendement de 1200 analyses photométriques par heure et 600 analyses électrolytiques par heure. Le système de biochimie ADVIA[®]1800 n'est utilisé que dans un but de diagnostic *in vitro*.



Source : ADVIA®1800 Chemistry System, Manuel d'utilisation

Figure N°19 : Le système de biochimie ADVIA® 1800

➤ **Principe de fonctionnement**

- a) Le système effectue des mesures des blancs cuvettes avant l'ajout de réactifs.
- b) Le premier réactif (R1) de l'analyse est aspiré depuis le plateau des réactifs 1 et distribué par la sonde de réactif dans la cuvette du plateau réactionnel.
- c) Les échantillons du plateau d'échantillons ou du passeur de racks sont aspirés et dilués par la sonde de dilution, puis distribués dans les cuvettes du plateau de dilution.
- d) Le mélangeur de dilution agite l'échantillon dilué.
- e) La sonde d'échantillonnage distribue le volume requis d'échantillon dilué dans les cuvettes du plateau réactionnel (le réactif se trouve déjà dans les cuvettes).

Le système peut utiliser le reste d'échantillon dilué dans les cuvettes du plateau de dilution pour des tests supplémentaires sur une demande, une ré-analyse, une dilution ou un test reflex.

- f) Le mélangeur réactionnel 1 mélange le premier réactif et l'échantillon.
- g) Le deuxième réactif (R2) de l'analyse est aspiré depuis le plateau des réactifs 2 et distribué par la sonde de réactif dans la cuvette du plateau réactionnel.
- h) Le mélangeur réactionnel 2 mélange l'échantillon, le réactif 1 et le réactif 2.
- i) La réaction se déroule selon la durée indiquée pour le dosage.
- j) Le spectrophotomètre recueille les données de concentration toutes les six secondes.
Le spectrophotomètre effectue des mesures lorsque le RRV tourne.
- k) Vous pouvez voir et imprimer les résultats de l'analyse.
- l) Les cuvettes du plateau réactionnel sont lavées lorsque la mesure est terminée.
- m) A la fin de l'analyse, l'énergie de la lampe est vérifiée pour chaque longueur d'onde.

4.2.2. Autres matériels

❖ **Centrifugeuse : NAHITA®multibas centrifuge**

Elle a été utilisée en phase pré-analytique pour la séparation du sérum et la préparation des échantillons à 3000 tour par minute pendant 5 minutes pour chaque spécimen.

❖ **Réfrigérateur : ENIEM®**

Il a servi à préserver les tubes destinés à la conservation à une température allant de 0 à 2 °c.

❖ **Autres :** balance (poids) et mètre ruban (tour de taille).

5. Méthodes d'étude

Les méthodes englobent toutes les étapes qui ont été mises en place pour la réalisation de ce travail, nous avons respecté autant que possible les normes et recommandations des organisations savantes.

5.1. Etape pré-analytique

5.1.1. Recrutement des sujets de l'étude

Nous avons sélectionné des femmes adultes sur la base des critères d'inclusion et d'exclusion regroupés dans une fiche de renseignement, élaborée préalablement et comportant d'autres informations fondamentales telles que :

- L'identification personnelle : Nom, prénom, date et lieu de naissance, résidence, environnement, etc.
- Données anthropométriques : Taille, poids, tour de taille et groupage sanguin. Pendant l'entretien seuls la taille et le tour de taille ont été mesurés.
- Les caractéristiques du cycle menstruel : Nature du cycle et traitement contraceptif.
- Le mode de vie : Habitudes alimentaires, activité physique et rythme du sommeil.
- Les antécédents pathologiques familiaux.

 **Aspect éthique**

Avant le recrutement, un entretien préalable avec les sujets est primordial afin d'expliquer le but de notre étude, leur contribution à notre travail, les actes que nous serions amenés à

effectuer et les résultats voulus. Un consentement éclairé a été signé par toutes les participantes avant d'entreprendre le prélèvement.

En cas d'observation d'une valeur pathologique évidente, les intéressées ont été orientées vers les services cliniques spécialisés et exclues de notre étude.

5.1.2. Préparation des sujets pour le prélèvement

- Un jeûne de 12 heures minimum est exigé avec prise d'un repas léger la veille du prélèvement ;
- Une durée de sommeil entre 7 à 8 heures est appréciée ;
- Les prélèvements ont été effectués entre 7h et 10h ;
- Pas d'activité physique intense avant le prélèvement ;
- Un repos de 10 minutes avant le prélèvement est requis.

5.1.3. Le prélèvement proprement dit

- Un prélèvement veineux est effectué au pli du coude à l'aide d'une épicrotine et d'un garrot peu serré ;
- Recueil du sang dans deux tubes secs : un pour l'analyse et l'autre pour la conservation plus un tube hépariné ;
- Inscription du nom et prénom de la patiente sur l'étiquette du tube ;
- Laisser les tubes 15 à 30 minutes pour la formation du caillot de fibrine.

5.1.4. Le recueil du spécimen pour l'analyse

- Trituration douce de l'échantillon avec un agitateur manuel ;
- Centrifugation à 3000 Tours/minute pendant 5 minutes ;
- Note de l'aspect du sérum recueilli qui doit être clair : absence d'hémolyse ou d'opalescence ;
- Pipetage du sérum, conditionnement dans deux tubes secs étiquetés, l'un des tubes est conservé, le second est envoyé pour l'analyse accompagné d'un substitut d'ordonnance.

5.2. Etape analytique

5.2.1. Paramètres de l'étude

Pour notre étude sur les valeurs de référence biochimiques, nous avons retenus les paramètres suivants :

- Paramètres du bilan glycémique : Glycémie.
- Paramètres du bilan lipidique : Cholestérol total.
Triglycérides.
HDL-cholestérol.
LDL-cholestérol.
- Paramètres du bilan hépatique : Phosphatases alcalines.
Gamma glutamyl transférase.
Bilirubine totale.
Bilirubine directe.
Transaminases : ASAT, ALAT.

5.2.2. Contrôle qualité et validation des méthodes analytiques

Le contrôle qualité interne dans un laboratoire d'analyses médicales est un processus utilisé pour contrôler et évaluer l'étape analytique qui produit les résultats des patients, et qui a pour objectif de prévenir les erreurs du processus analytique, vérifier en continu les performances des réactifs et des équipements et d'apporter la preuve de la validité technique des résultats.

Avant l'utilisation de l'automate, une qualification est requise, c'est-à-dire que chaque paramètre biochimique analysé doit subir une validation des techniques analytiques qui constitue un prérequis et une condition indispensable. Chaque résultat obtenu à partir de l'automate doit être vérifié à l'aide des contrôles qualités qui sont effectués quotidiennement, et à chaque calibration ou l'utilisation d'un nouveau lot de réactif.

Ces contrôles doivent être validés par les techniciens exécutants et les médecins ou pharmaciens biochimistes. L'automate doit également subir une calibration pour optimiser ses performances.

Ainsi, un dosage régulier des contrôles permet l'élaboration d'une base de données de contrôle qualité que le laboratoire utilise afin de valider les résultats des patients

Pour notre études les contrôles suivants ont été utilisés : un contrôle normal PCC1,et un contrôle pathologique PCC2 pour chaque paramètre de l'étude, la procédure de contrôle a été effectuée et vérifiée quotidiennement.

5.2.3. Dosage des paramètres de l'étude sur ADVIA®1800 (Siemens)

Tableau N°18 : Méthodes analytiques de dosage des paramètres de l'étude.

Paramètre	Méthode de dosage	Réaction	Interférences
Glycémie	Méthode de Trinder à la glucose oxydase	Point final (EPA)	Bilirubine, hémoglobine, lipémie
Cholestérol total	Méthode enzymatique	Point final (EPA)	Bilirubine, hémoglobine, lipémie.
Triglycérides	GPO, Trinder sans blanc sérum	Point final (EPA)	Bilirubine Non conjuguée, hémoglobine
Cholesterol-HDL (High Density Lipoprotein)	Méthode par élimination/catalase	Cinétique en 2 points (2PA)	Bilirubine, hémoglobine, lipémie,ascorbate.
Phosphatases alcalines	Méthode de l'IFCC modifiée	Cinétique (RRA)	Bilirubine, hémoglobine, lipémie
Gamma glutamyl transférase (GGT)	Méthode de l'IFCC modifiée	Cinétique (RRA)	Bilirubine, hémoglobine lipémie
Bilirubine totale	Méthode d'oxydation par le vanadate	Point final (EPA)	Acide ascorbique , hémoglobine, lipémie
Bilirubine directe	Méthode d'oxydation par le vanadate	Point de virage (EPA)	Acide ascorbique , hémoglobine, lipémie
Aspartate aminotransférase (ASAT)	Méthode de l'IFCC modifiée	Cinétique (RRA)	Bilirubine lipémie.
Alanine aminotransférase (ALAT)	Méthode de l'IFCC modifiée	Cinétique (RRA)	Bilirubine, hémoglobine, lipémie.
Cholestérol-LDL (Low Density Lipoprotein)	Calculé en utilisant TG, CHOL, HDL par la formule de FRIEDEWALD		

5.3. Etape post-analytique

5.3.1. Validation des résultats

Les résultats des paramètres biochimiques obtenus par l'ADVIA® 1800 ont été validés à deux niveaux ; une validation analytique réalisée par les techniciens du laboratoire central sous la responsabilité des médecins et pharmaciens biochimistes, et une validation clinique qui est l'apanage de ces derniers.

5.3.2. Recueil et Analyse statistique des résultats

Après la remise des fiches des résultats, les différentes données ont été répertoriées sur fichier Excel pour chaque patiente en fonction de l'âge, la taille, le poids et le tour de taille.

Pour l'analyse des données recueillies tout au long de l'étude une panoplie de programmes et de logiciels avec une licence d'évaluation ont été utilisés pour faciliter le travail.

✓ Microsoft Excel

Il s'agit d'un logiciel tableur qui permet de réaliser des tâches comptables et financières grâce à ses applications pour créer et travailler avec des feuilles de calcul, il assure la conversion des données en graphique ou tableau par une mise en forme conditionnelle et un aperçu instantané du résultat. Il contient aussi des formules et fonctions qui facilitent l'analyse rapide des données.

✓ XLSTAT

C'est un logiciel d'analyse de données et un outil statistique modulaire et évolutif, son fonctionnement s'appuie sur Microsoft Excel, il permet l'analyse statistique des données intégrées à l'Excel.

✓ Analyse it

Outil d'analyse statistique et de régression pour Microsoft Excel, il permet de visualiser les distributions, de voir les tendances et les modèles, de repérer les valeurs aberrantes avec des graphiques puissants à partir d'histogrammes pour disperser les parcelles, il permet aussi de découvrir les relations entre les variables et identifier les facteurs importants avec une régression significative et des techniques d'ajustement du modèle.

✓ REFVAL

Application informatique qui met en œuvre les recommandations de l'IFCC CLSI sur le traitement statistique des valeurs de référence, il assure l'affichage graphique de la répartition des valeurs de référence, l'identification ou élimination des valeurs aberrantes, aussi le test d'ajustement de la distribution à la forme gaussienne et l'estimation non paramétrique et paramétrique des limites de référence.

✓ Medcalc

Logiciel statistique conçu pour les sciences biomédicales, il comprend des procédures et des diagrammes statistiques paramétriques et non paramétriques de base tels que les statistiques descriptives, ANOVA, la régression linéaire et non linéaire et bien d'autres. Le logiciel contient également des méta-analyses et des calculs de taille de l'échantillon.

5.3.3. Méthodes statistiques

Nous avons utilisé :

✓ **La méthode non paramétrique** : recommandée par CLSI C28-A3 (Geffré A, 2009) pour la détermination des IR. Le choix de cette méthode exige un nombre d'individus suffisant (≥ 120) avec une distribution non gaussienne (ne suivant pas la loi normale) ce qui est le cas de notre échantillon composé de 133 femmes.

✓ **La méthode paramétrique** : pour l'étude de la variation des différents paramètres en fonction de différents facteurs (âge, IMC, DFG et tour de taille).

✓ **Test de Tukey** : Pour la détection des valeurs aberrantes.

D'autres tests (Dixon et Grubbs) ont été employés comme moyen de vérification des résultats obtenus avec le test de base.

✓ **Test binomial** : Recommandé par le CLSI pour la comparaison des différents IR observés avec ceux de l'ADVIA .Il teste aussi la transférabilité ou la validation des IR (CLSI, 2010).

✓ **Test d'ANOVA (Analyse Of Variances)** : Test utilisé pour la comparaison des valeurs entre plusieurs groupes (tranches d'âge, d'IMC, de tour de taille et de DFG).

• **La valeur P** : C'est un outil permettant d'interpréter la sortie d'un test statistique en calculant la probabilité que la différence observée soit due uniquement au hasard.

Pour un seuil de significativité statistique α :

-Si $P < \alpha$: La différence statistique est significative (il est peu probable que la différence observée soit due au hasard).

-Si $P > \alpha$: La différence statistique est non significative (La probabilité que la différence observée soit due au hasard est grande) (Charpentier A, 2012).

RESULTATS

Les résultats obtenus tout au long de notre travail sont comparés aux valeurs de référence de l'automate ADVIA®1800 (Siemens) pour chaque paramètre ainsi que la comparaison entre les tranches d'âge et du tour de taille, tout cela détaillé dans les tableaux ci-dessous.

Tableau N°19 : Comparaison entre les intervalles de l'ADVIA et ceux observés pour les différents paramètres de l'étude.

Paramètre	IR ADVIA	IR observé	T binomial Différence	% Population entrant dans l'IR Advia	Transférabilité
Glycémie (g/l)	0.74-1.06	0.70-1.06	NS P=0.281	94	Oui
Cholestérol total (g/l)	1.1-2.4	1.09-2.35	NS P=0.980	87	Oui
Triglycérides (g/l)	0.50-2.00	0.48-1.96	NS P=0.9984	99	Oui
HDL-cholestérol (g/l)	0.40-0.60	0.30-0.69	S P<0.0001	66	Non
LDL-cholestérol (g/l)	<1.6	0.56-1.51	NS P=1.000	100	Oui
PAL (UI/L)	45-129	23-102	S P<0.0001	79	Non
GGT (UI/L)	0-38	2-24	NS P=1.000	100	Oui
Bilirubine T (mg/l)	3-12	2-11	NS P=0.614	95	Oui
Bilirubine D (mg/l)	0-2	0-3	S P<0.0001	84	Non
ASAT (UI/L)	0-34	17-38	NS P=0.4348	94	Oui
ALAT (UI/L)	10-49	7-29	NS P=0.7662	96	Oui

NS : pas de différence significative S significative

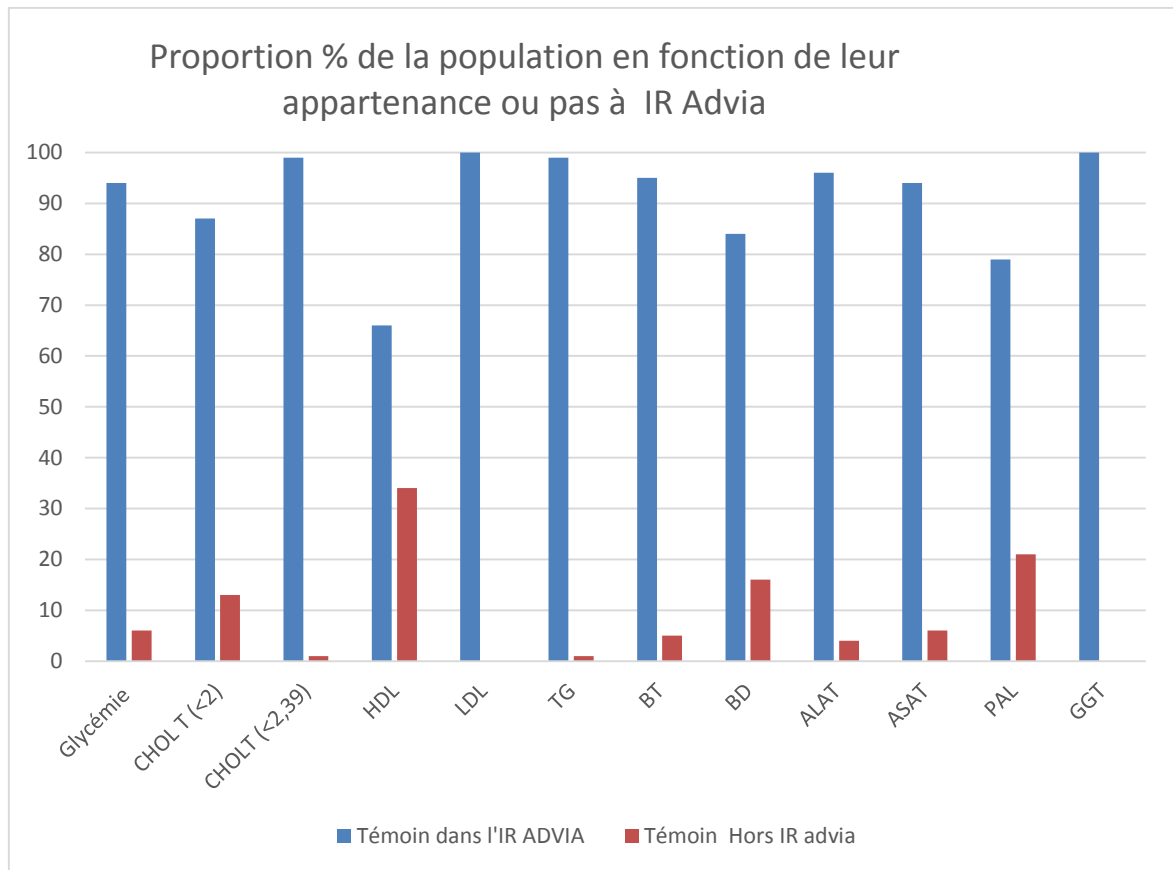


Figure N°20 : Proportion de la population en fonction de leur appartenance ou pas à l'intervalle de référence de l'ADVIA pour chaque paramètre étudié.

Tableau N°20 : Comparaison entre les groupes d'âge et les groupes de tour de taille pour les différents paramètres de l'étude.

Paramètre	Evolution en fonction de l'âge		Evolution en fonction du tour de taille	
	ANOVA	Méthode paramétrique	ANOVA	Méthode paramétrique
Glycémie	Différence pour classes : [52-75] P=0.0274	Légère augmentation P=0.0112	NS	Légère augmentation P=0.0106
Cholestérol total	Différence significative P<0.0012	Augmentation P<0.0001	Différence pour classe 50-75cm P=0.0072	Augmentation p<0.0001
Triglycérides	Différence significative P<0.0002	Augmentation p<0.0001	S P<0.0001	Augmentation P<0.001
HDL-cholestérol	NS	Augmentation P=0.710	NS	Légère diminution non significative P=0.07
PAL	/	Légère augmentation p=0.003	/	Légère augmentation P=0.002
GGT	S P=0.0251	Légère augmentation P=0.015	NS	Légère augmentation non significative P=0.053
Bilirubine totale	NS	NS	NS	NS
Bilirubine directe	NS	NS	NS	NS
ASAT	NS	Légère augmentation P<0.0001	NS	Légère augmentation P<0.0001
ALAT	NS	Légère augmentation P=0.022	NS	Légère augmentation P=0.013

NS : pas de différence significative S significative

1. Glycémie

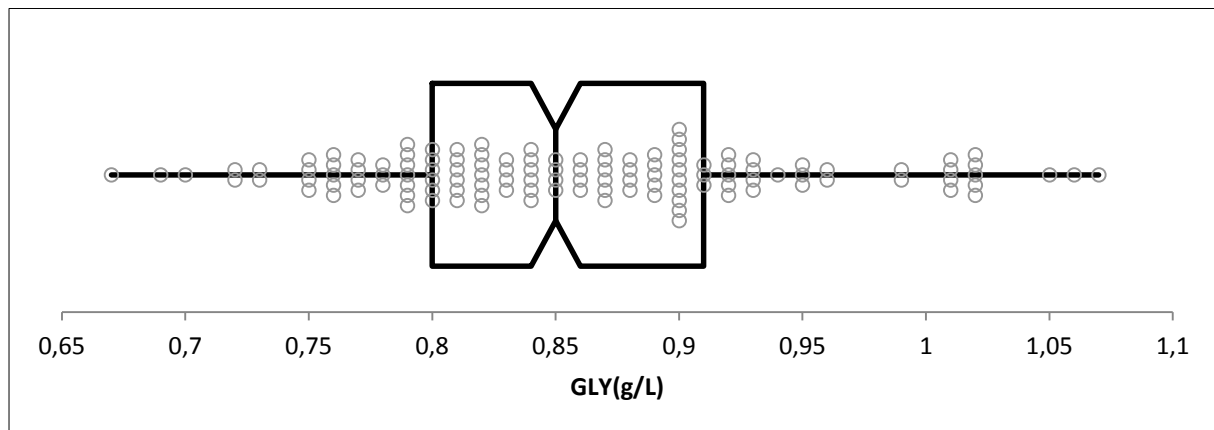


Figure N°21 : Répartition des données de la glycémie sans les valeurs aberrantes

Tableau N°21 : Données statistiques pour le paramètre glycémie.

Statistique	Glycémie (g/L)
Nb. d'observations	126
Minimum	0,670
Maximum	1,100
1er Quartile	0,800
Médiane	0,855
3ème Quartile	0,910
Moyenne	0,863
Variance (n-1)	0,008
Ecart-type (n-1)	0,090

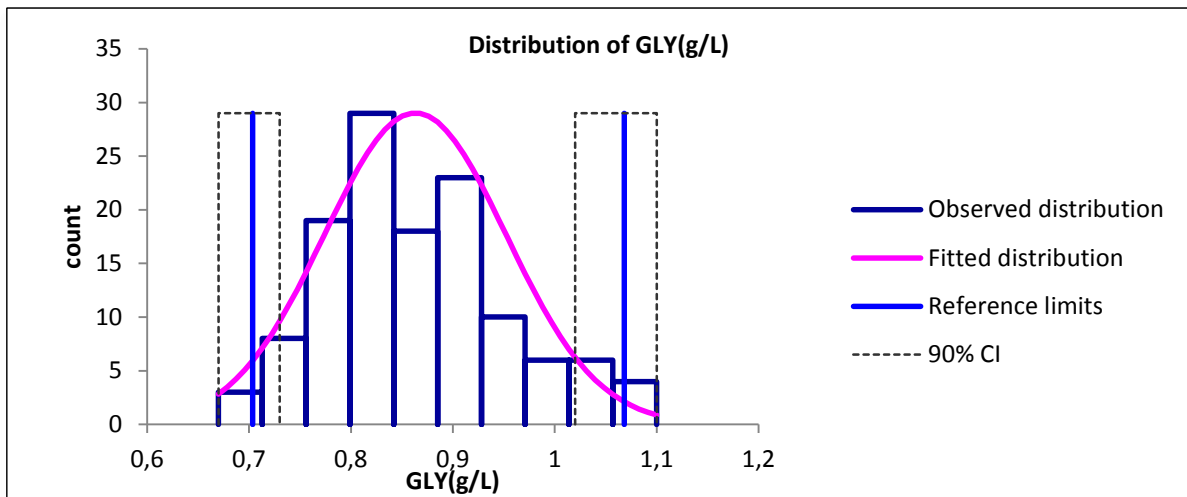


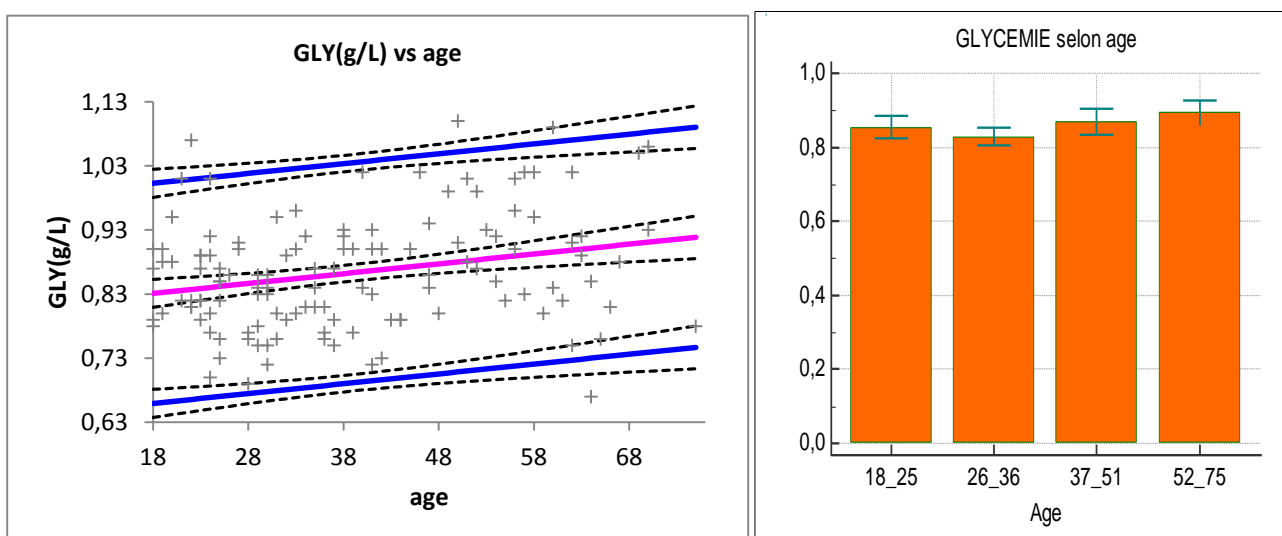
Figure N°22 : Distribution de la population d'étude selon le taux de glycémie

Tableau N°22 : Intervalle de référence de la glycémie

Variable	Limite de référence inférieure [IC90%]	Limite de référence supérieure [IC90%]	% Témoins dans IR observé et dans IR ADVIA %	% Témoins dans IR observé et hors IR ADVIA%
IR Observé	0,7035 [0,6700 ; 0,7300]	1,0683 [1,0200 ; 1,1000]	94	06
IR de l'ADVIA	0,74	1,06		

IC = Intervalle de Confiance

La différence entre les deux intervalles (observé et Advia) est non significative P=0.2810.



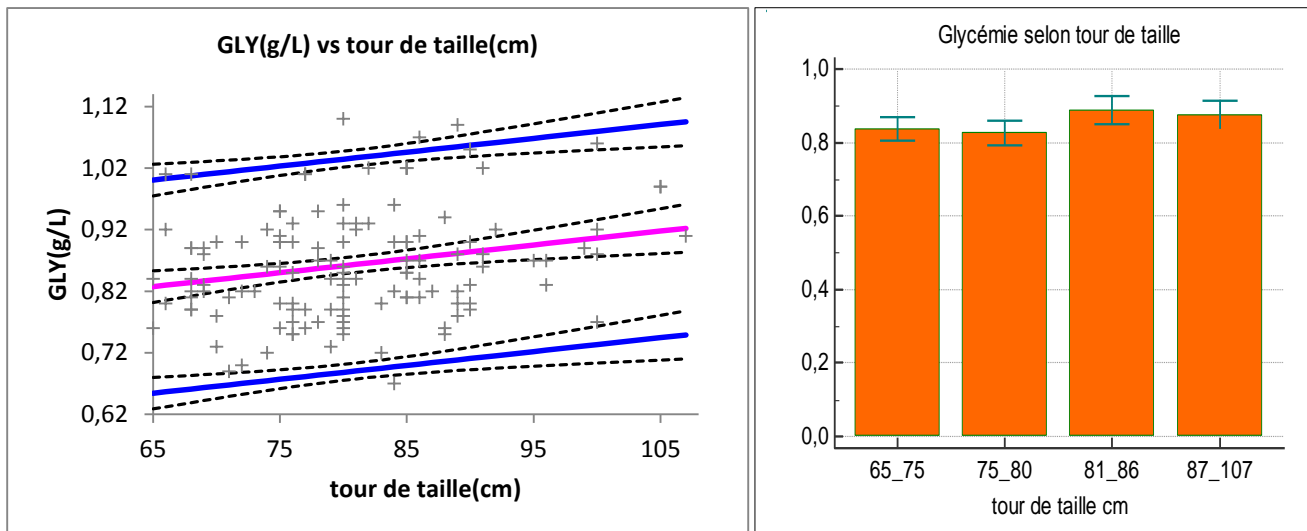


Figure N°23 : Glycémie en fonction de l'âge et le tour de taille

Test ANOVA (comparaison entre les groupes d'âge, et du tour de taille) ne montre pas de différence significative entre les groupes (âge ou tour de taille) sauf entre la classe âge 26 – 36 et âge 52 – 75 ($P= 0.0274$) ; En utilisant une méthode paramétrique en remarque une légère augmentation en fonction de l'âge ($P=0,0112$), et en fonction du tour de taille ($P=0,0106$).

2. Les paramètres du bilan lipidique

2.1. Cholestérol total

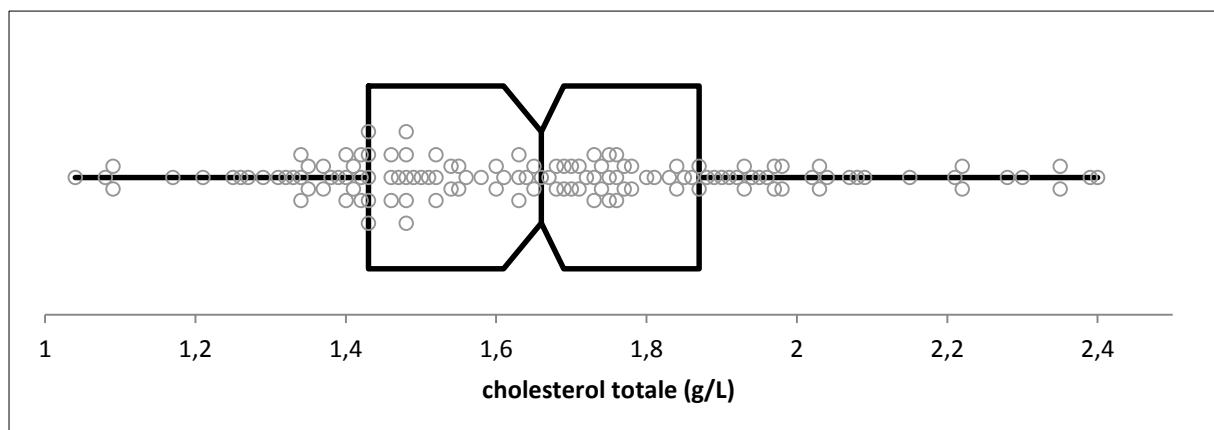


Figure N°24 : Répartition des données du cholestérol total sans les valeurs aberrantes.

Tableau N°23 : Données statistiques pour le paramètre cholestérol total.

statistiques	cholestérol totale (g/L)
Nb. d'observations	131
Minimum	1,040
Maximum	2,400
1er Quartile	1,430
Médiane	1,660
3ème Quartile	1,865
Moyenne	1,668
Variance (n-1)	0,088
Ecart-type (n-1)	0,297

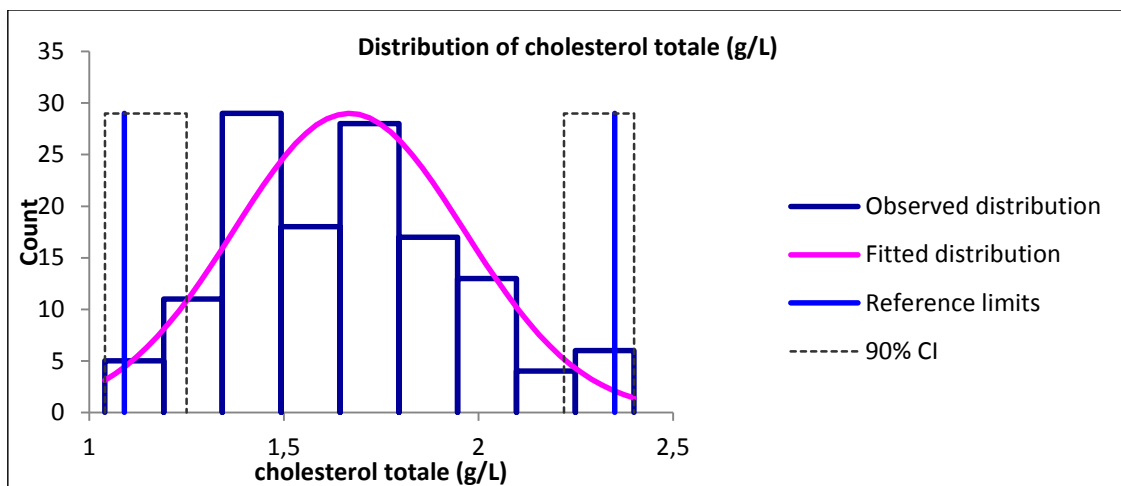
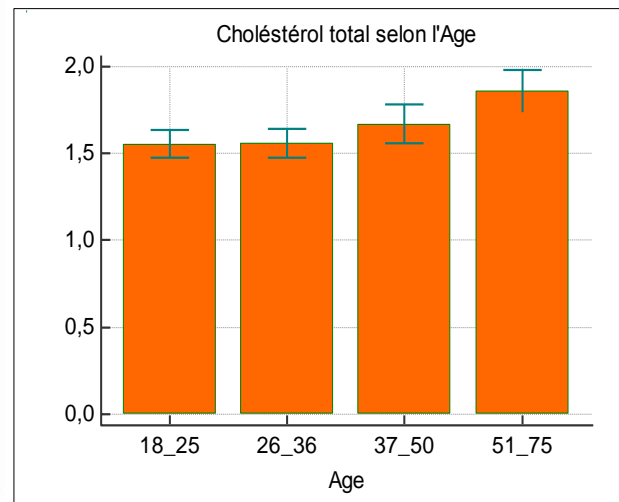
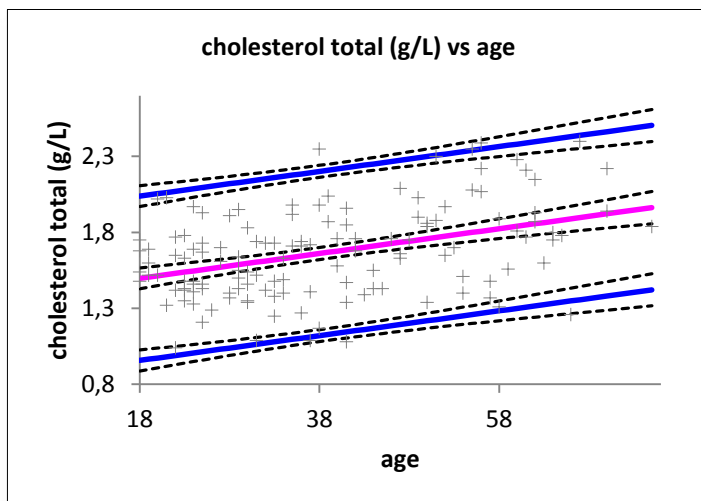
**Figure N°25 : Distribution de la population d'étude selon le taux de cholestérol total**

Tableau N°24 : Intervalle de référence du cholestérol total

Variable	Limite de référence inférieure [IC90%]	Limite de référence supérieure [IC90%]	Témoins dans IR %	Témoins hors IR %
IR Observé	1,09 [1,04 ; 1,25]	2,35[2,22 ; 2,4]	(<2) 87	(<2) 13
IR ADVIA	1,1	2,4	(<2,39) 99	(<2,39) 01
Test Binomial	CHOL T (<2) 0,0006 CHOL T (<2,39) 0,9800			

CHOL T (<2) : Il existe une différence significative $P=0.0006$ entre Les valeurs observées et les valeurs de l'ADVIA.

CHOL T (<2.39) : La différence est non significative $P=0.9800$ entre Les valeurs observées et les valeurs de l'ADVIA.



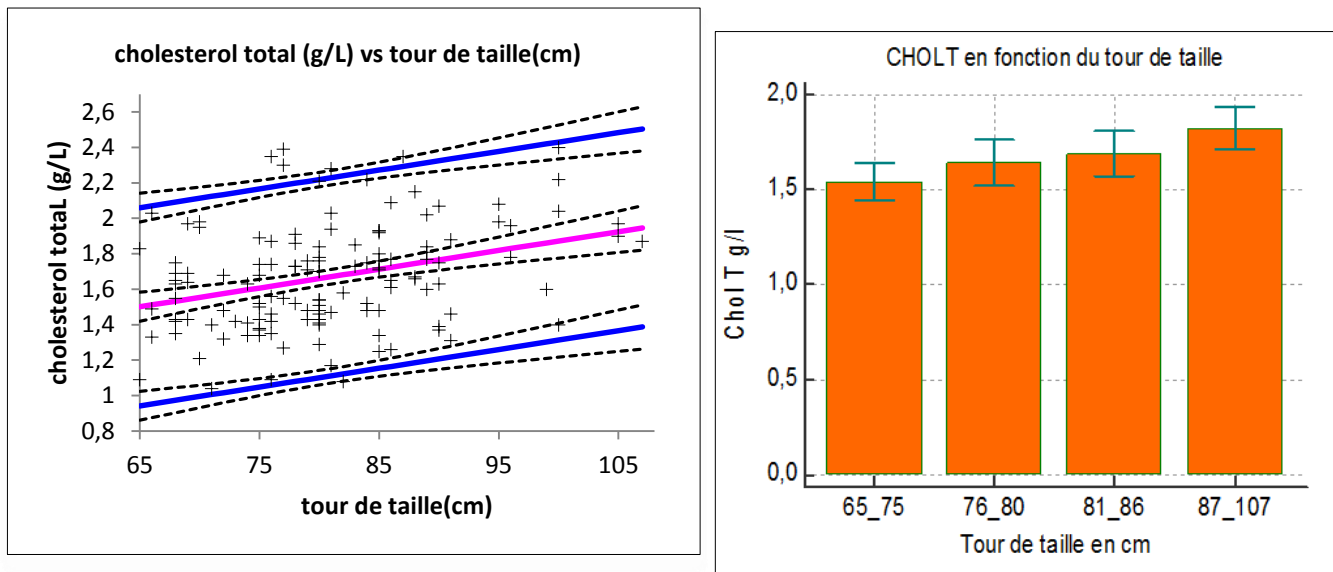


Figure N°26 : Cholestérol total en fonction de l'âge et du tour de taille.

Test ANOVA (comparaison entre les groupes d'âge, et tour de taille) montre une différence significative entre les groupes d'âge ($P < 0,0012$) et entre les groupes du tour de taille ($P = 0,0072$) particulièrement avec le groupe 50-75.

En utilisant une méthode paramétrique on remarque une augmentation en fonction de l'âge ($P < 0,0001$), et une augmentation significative ($P < 0,0001$) en fonction du tour de taille.

2.2. Triglycérides

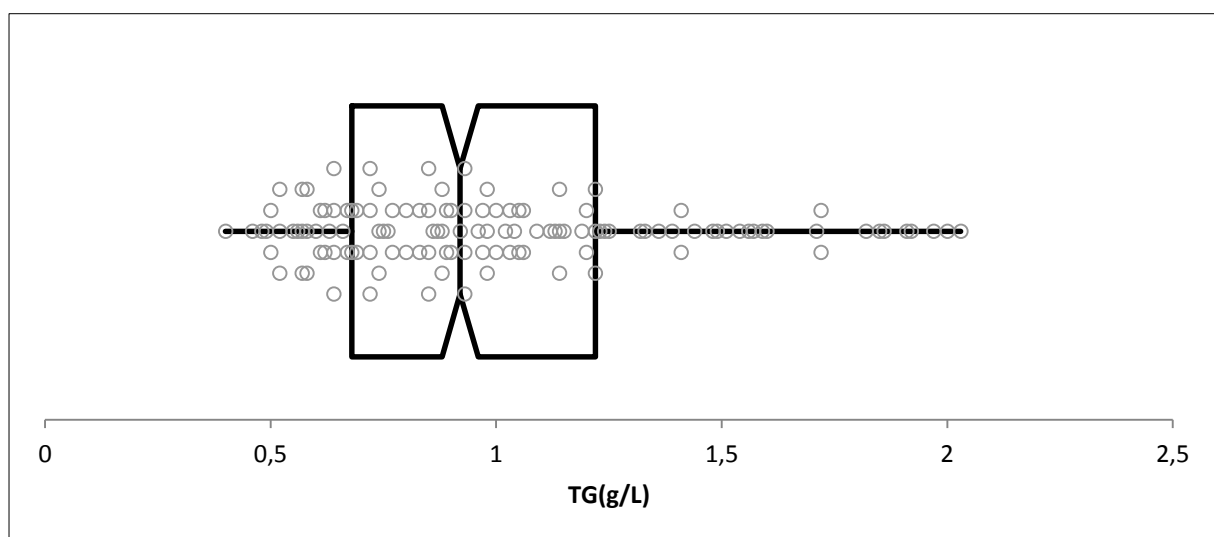


Figure N°27 : Répartition des données des triglycérides sans les valeurs aberrantes.

Tableau N°25 : Données statistiques pour le paramètre triglycérides.

Statistique	TG (g/L)
Nb. d'observations	125
Minimum	0,400
Maximum	2,030
1er Quartile	0,680
Médiane	0,920
3ème Quartile	1,220
Moyenne	0,999
Variance (n-1)	0,157
Ecart-type (n-1)	0,396

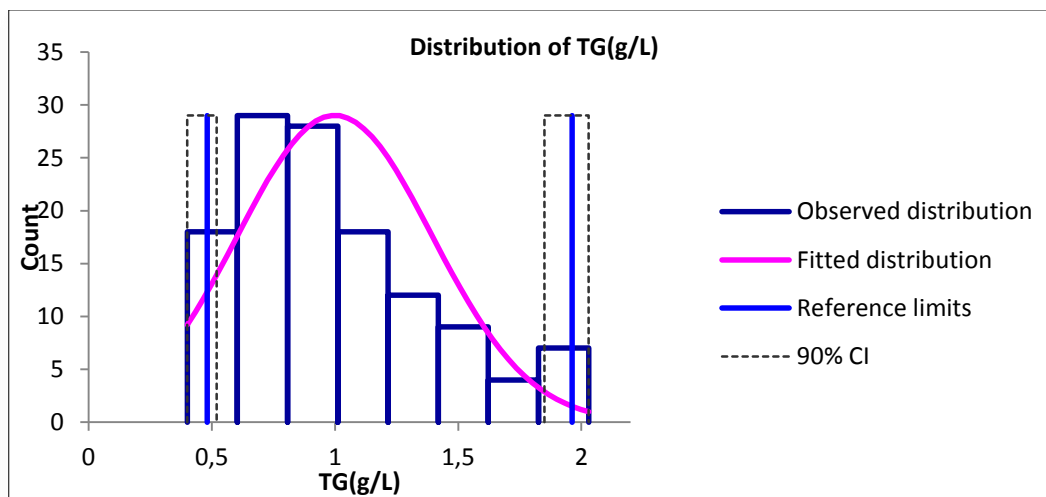
**Figure N°28 : Distribution de la population d'étude selon le taux des triglycérides.**

Tableau N°26 : Intervalle de référence des triglycérides.

Variable	Limite de référence inférieure [IC90%]	Limite de référence supérieure [IC90%]	Témoins dans l'IR %	Témoins hors IR %
IR Observé	0,4815 [0,40 ; 0,52]	1,9625 [1,85; 2,03]	99	1
IR ADVIA	0,50	2,00		
Test Binomial	P=0,9984			

La différence est non significative P=0,9984 entre les valeurs observée et les valeurs de l'ADVIA.

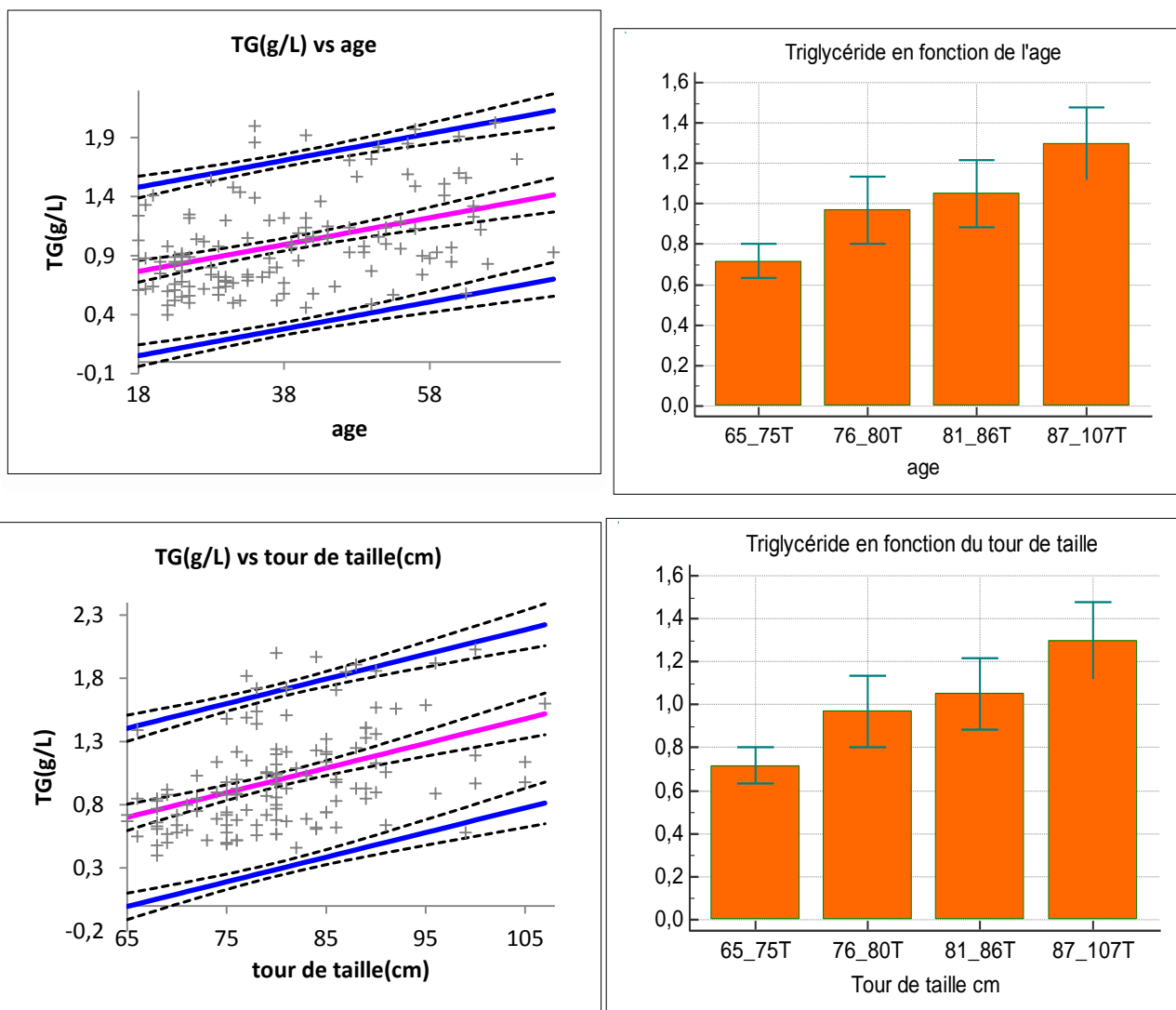


Figure N°29 : Triglycérides en fonction de l'âge et du tour de taille.

Test ANOVA (comparaison entre les groupes d'âge, et tour de taille) montre une différence significative entre les groupes d'âge ($P < 0,0002$) et entre les groupes du tour de taille ($P < 0,0001$).

En utilisant une méthode paramétrique on remarque une augmentation en fonction de l'âge ($P < 0,0001$), et une augmentation significative ($P < 0,0001$) en fonction du tour de taille.

2.3. Cholesterol-HDL (High Density Lipoprotein)

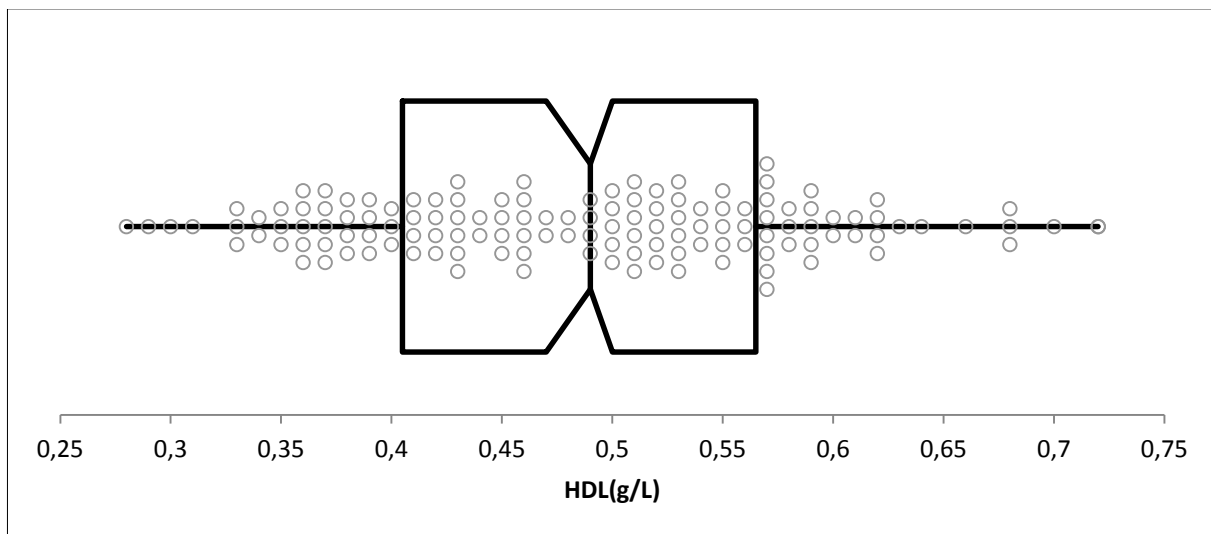


Figure N°30: Répartition des données du cholestérol-HDL sans les valeurs aberrantes.

Tableau N°27 : Données statistiques pour le paramètre cholestérol-HDL.

Statistique	HDL (g/L)
Nb. d'observations	133
Minimum	0,280
Maximum	0,720
1er Quartile	0,410
Médiane	0,490
3ème Quartile	0,560
Moyenne	0,486

Variance (n-1)	0,010
Ecart-type (n-1)	0,100

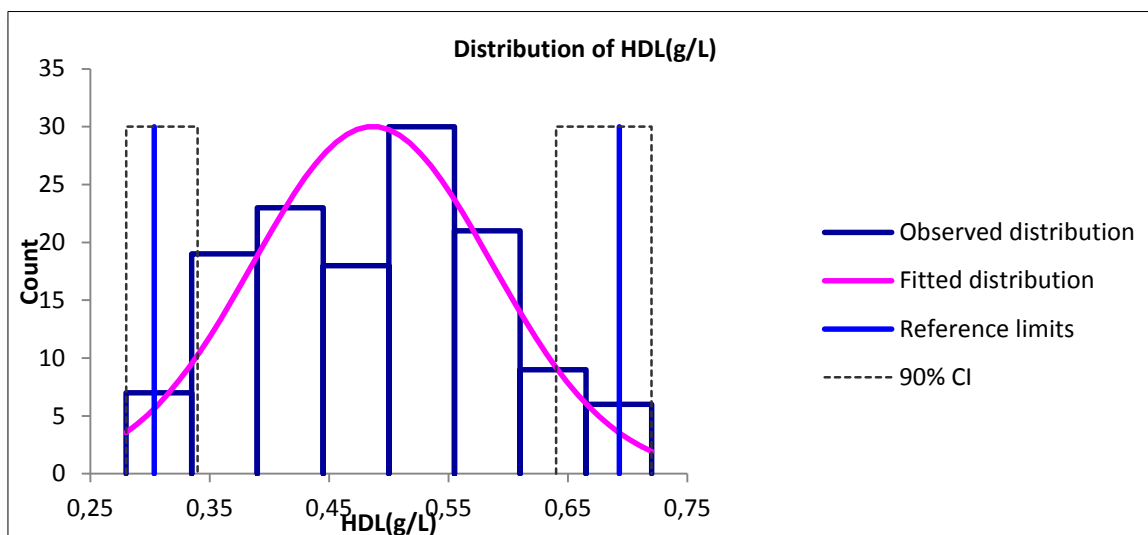


Figure N°31 : Distribution de la population d'étude selon le taux du cholestérol-HDL.

Tableau N°28 : Intervalle de référence du cholestérol-HDL.

Variable	Limite de référence inférieure [IC90%]	Limite de référence supérieure [IC90%]	Témoins dans IR %	Témoins hors IR %
IR Observé	0,3035 [0,28; 0,34]	0,693 [0,64; 0,72]	66	34
IR ADVIA	0,40	0,60		
Test Binomial	P<0,0001			

Il existe une différence significative $P < 0,0001$ entre les valeurs observées et les valeurs de l'ADVIA.

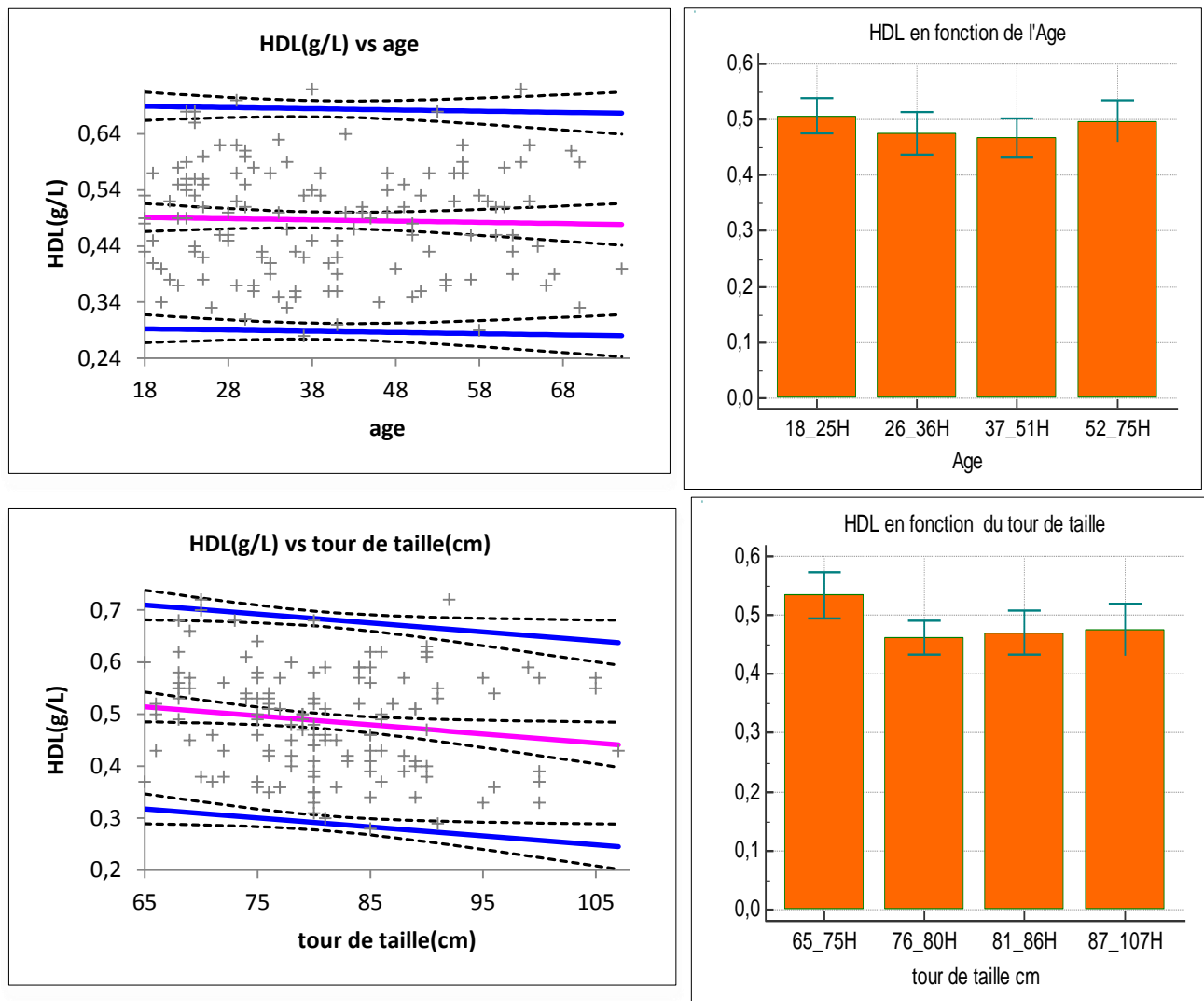


Figure N°32 : Cholestérol-HDL en fonction de l'âge et du tour de taille.

Test ANOVA (comparaison entre les groupes d'âge, et tour de taille) montre pas de différence significative entre les groupes d'âge et entre les groupes du tour de taille. En utilisant une méthode paramétrique en remarque pas d'augmentation en fonction de l'âge ($P=0,710$), et une légère diminution non significative ($P=0,07$) en fonction du tour de taille.

2.4. Cholestérol-LDL (Low Density Lipoprotein)

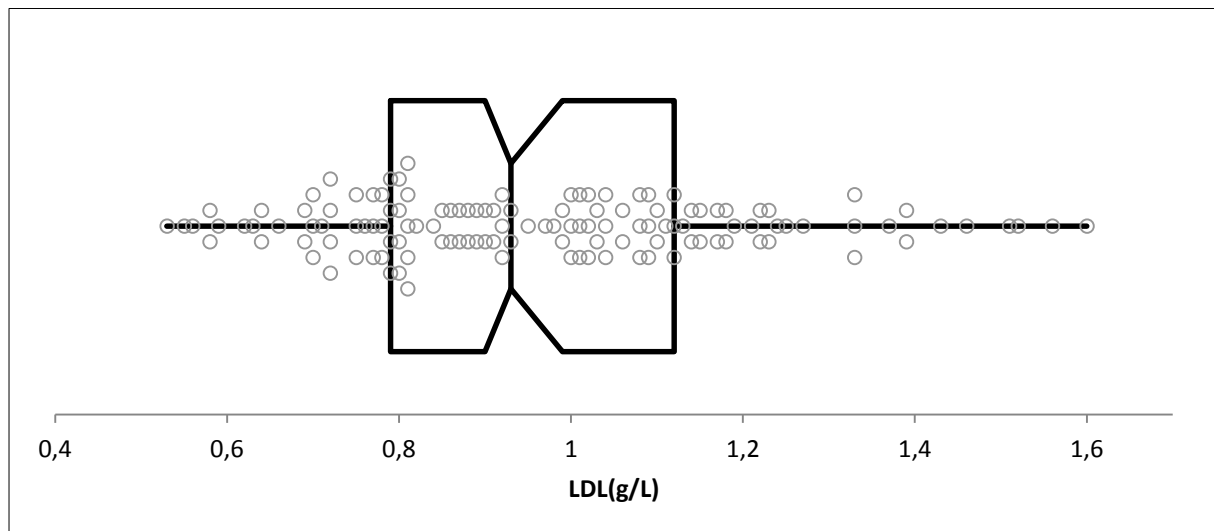


Figure N°33 : Répartition des données du cholestérol-LDL sans les valeurs aberrantes.

Tableau N°29 : Données statistiques pour le paramètre cholestérol-LDL.

Statistique	LDL (g/L)
Nb. d'observations	128
Minimum	0,530
Maximum	1,600
1er Quartile	0,790
Médiane	0,930
3ème Quartile	1,120
Moyenne	0,965
Variance (n-1)	0,056
Ecart-type (n-1)	0,236

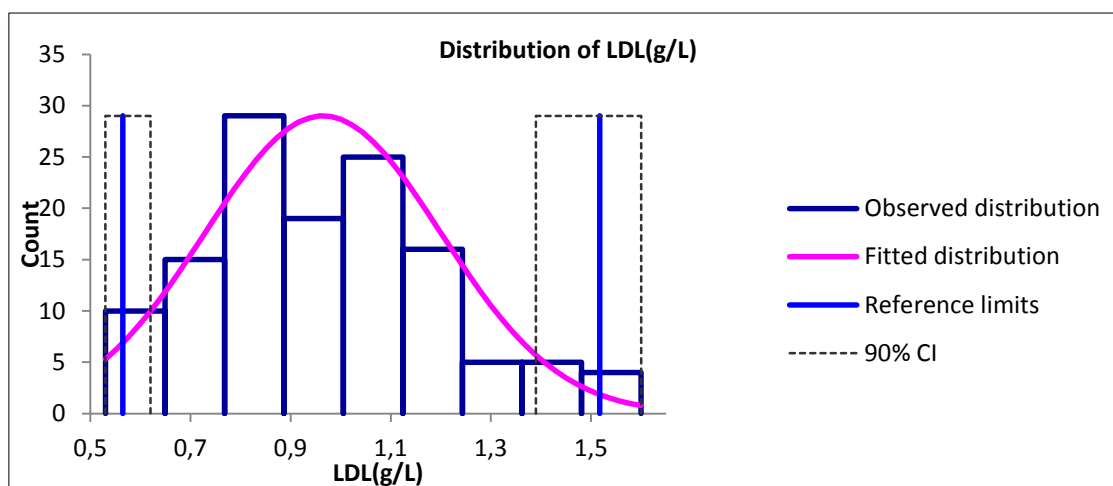


Figure N°34 : Distribution de la population d'étude selon le taux du cholestérol-LDL.

Tableau N°30 : Intervalles de référence du cholestérol-LDL.

Variable	Limite de référence inférieure [IC90%]	Limite de référence supérieure [IC90%]	Témoins dans IR %	Témoins hors IR %
IR Observé	0,5645 [0,53; 0,62]	1,51775[1,39; 1,6]	100	00
IR ADVIA	<1.60			
Test Binomial	P=1,0000			

Il existe aucune différence significative $P=1,0000$ entre les valeurs observées et les valeurs de l'intervalle de référence de l'ADVIA.

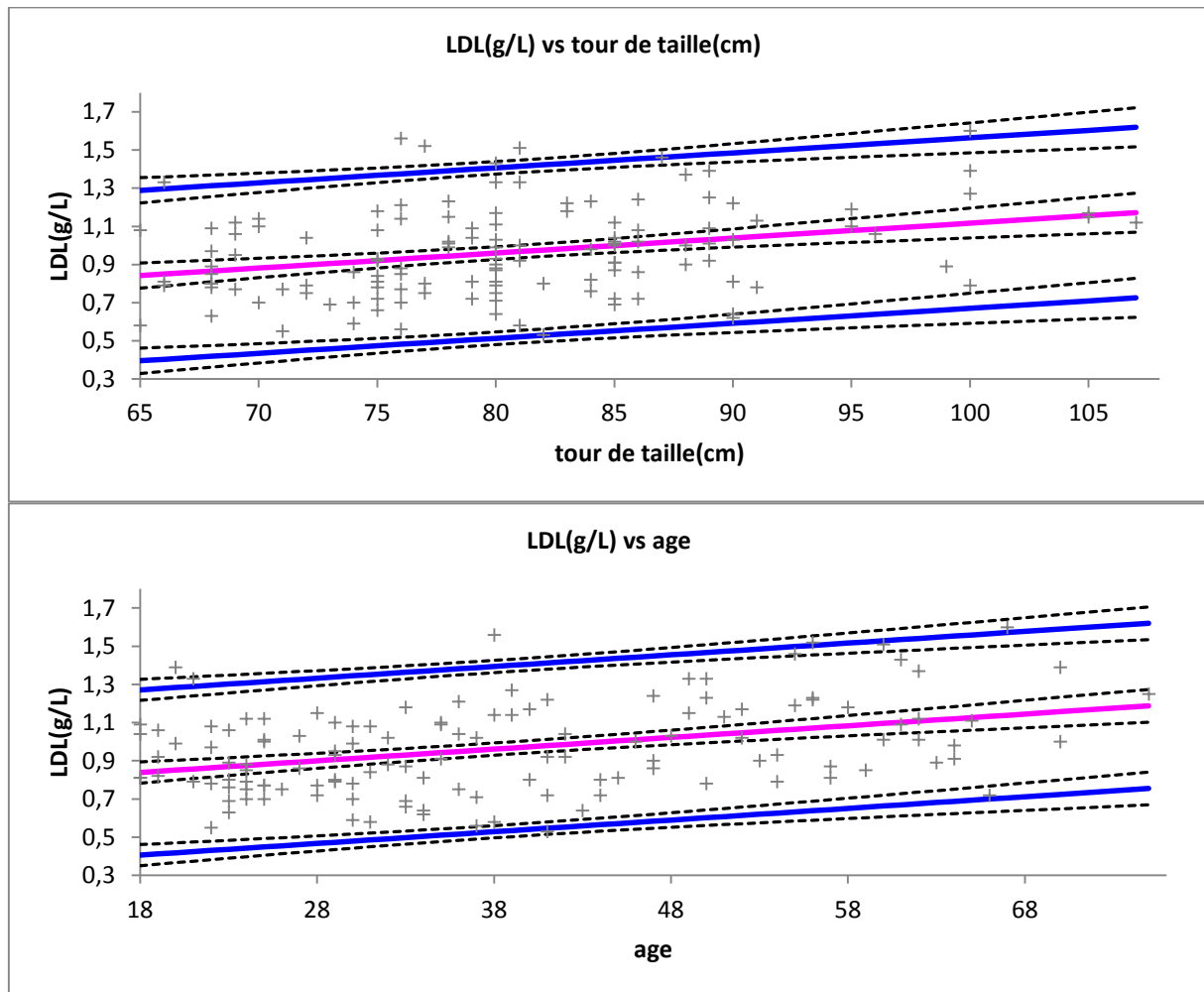


Figure N°35 : Cholestérol-LDL en fonction de l'âge et le tour de taille.

En utilisant une méthode paramétrique on remarque une légère d'augmentation en fonction de l'Age ($P < 0,0001$), et en fonction du tour de taille ($P = 0,001$).

3. Les paramètres du bilan hépatique

3.1. Phosphatases alcalines

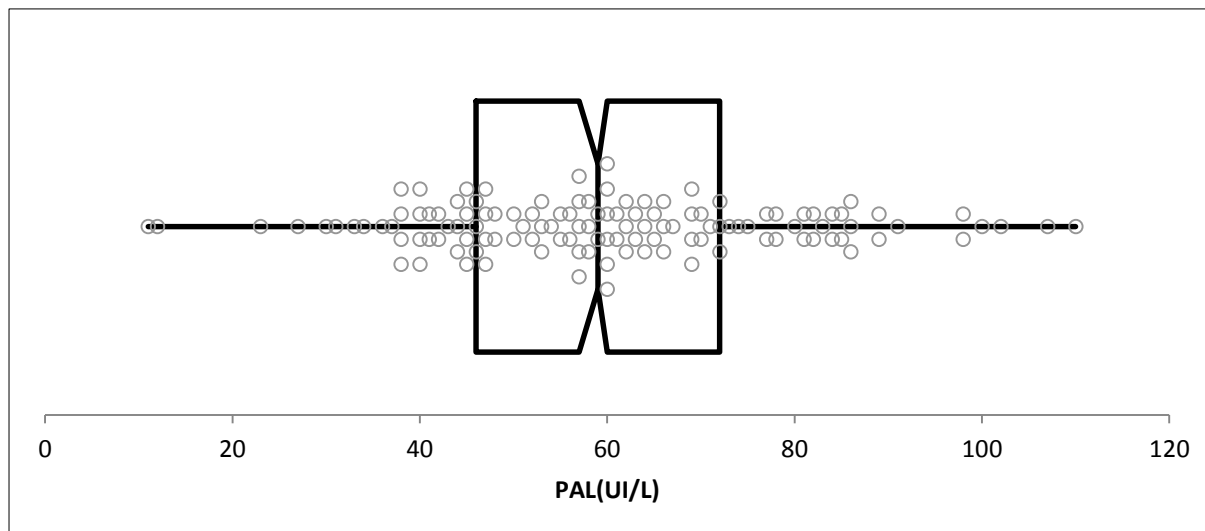


Figure N°36 : Répartition des données des phosphatases alcalines sans les valeurs aberrantes.

Tableau N°31 : Données statistiques pour les phosphatases alcalines.

Statistique	PAL (UI/L)
Nb. d'observations	123
Minimum	11,000
Maximum	110,000
1er Quartile	46,000
Médiane	59,000
3ème Quartile	72,000
Moyenne	60,008
Variance (n-1)	365,205
Ecart-type (n-1)	19,110

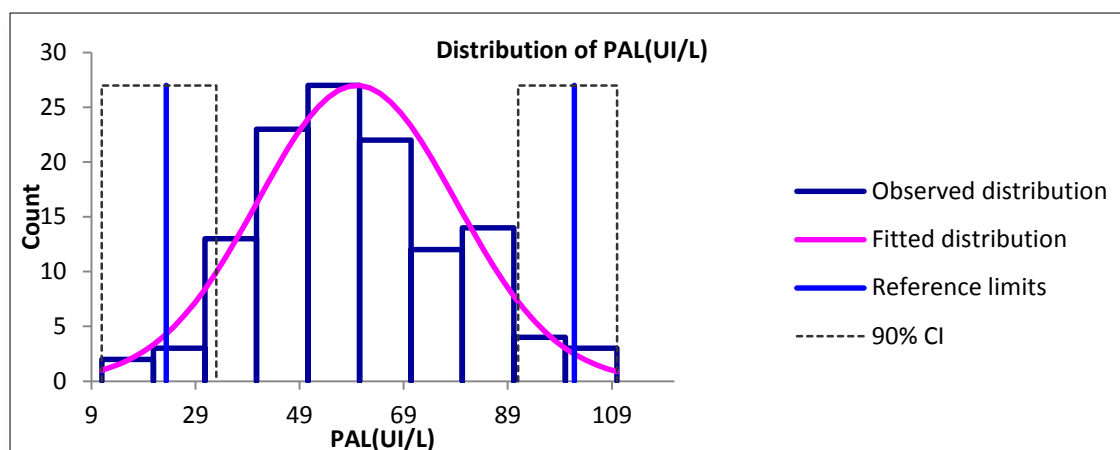


Figure N°37 : Distribution de la population d'étude selon le taux des phosphatases alcalines.

Tableau N°32 : Intervalles de référence des phosphatases alcalines.

Variable	Limite de référence inférieure [IC90%]	Limite de référence supérieure [IC90%]	Témoins dans IR %	Témoins hors IR %
IR Observé	23,4[11; 33]	101,8[91; 110]	79	21
IR ADVIA	45	129		
Test Binomial	P<0,0001			

La valeur observée est significativement différente de la valeur de l'intervalle de référence de l'ADVIA $P < 0,0001$.

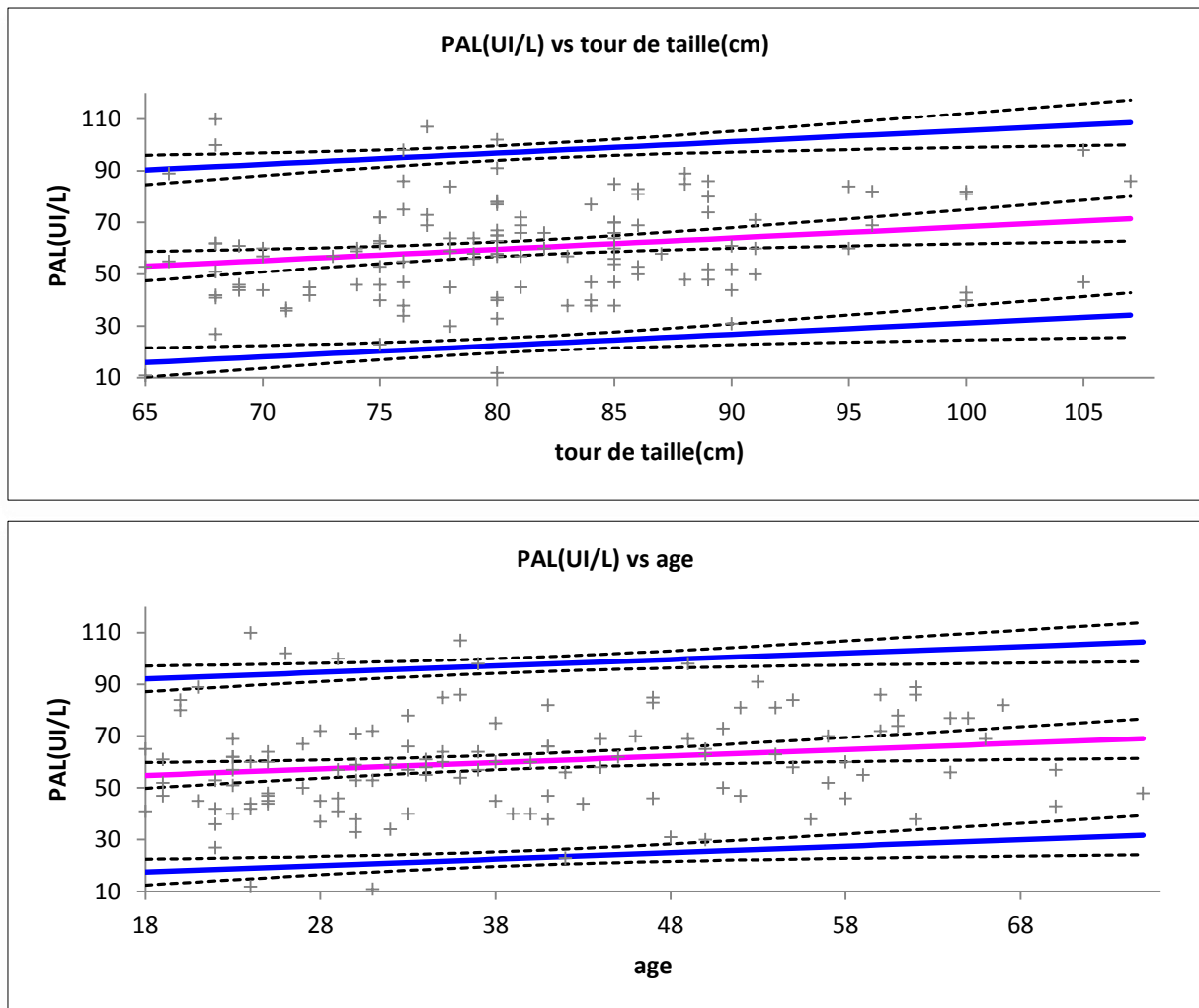


Figure N°38 : Phosphatases alcalines en fonction de l'âge et tour de taille.

En utilisant une méthode paramétrique en remarque une légère augmentation avec l'âge $P=0,003$, et en fonction du tour de taille $P= 0,002$.

3.2. Gamma glutamyl transférase

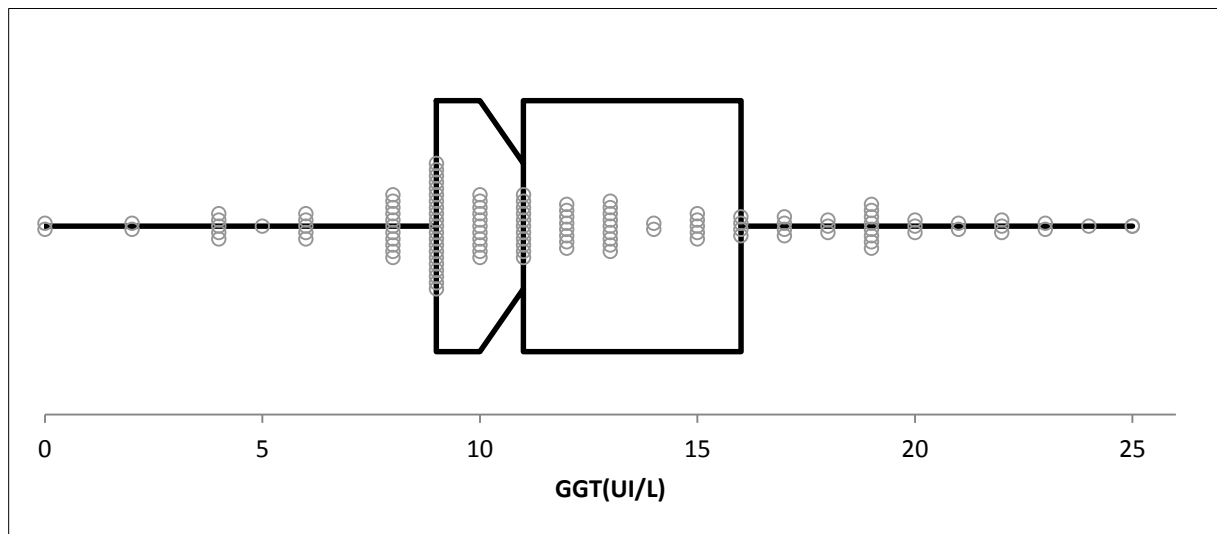


Figure N°39 : Répartition des données de la GGT sans les valeurs aberrantes.

Tableau N°33 : Données statistiques pour la GGT.

Statistique	GGT (UI/L)
Nb. d'observations	125
Minimum	0,000
Maximum	25,000
1er Quartile	9,000
Médiane	11,000
3ème Quartile	16,000
Moyenne	12,072
Variance (n-1)	28,713
Ecart-type (n-1)	5,358

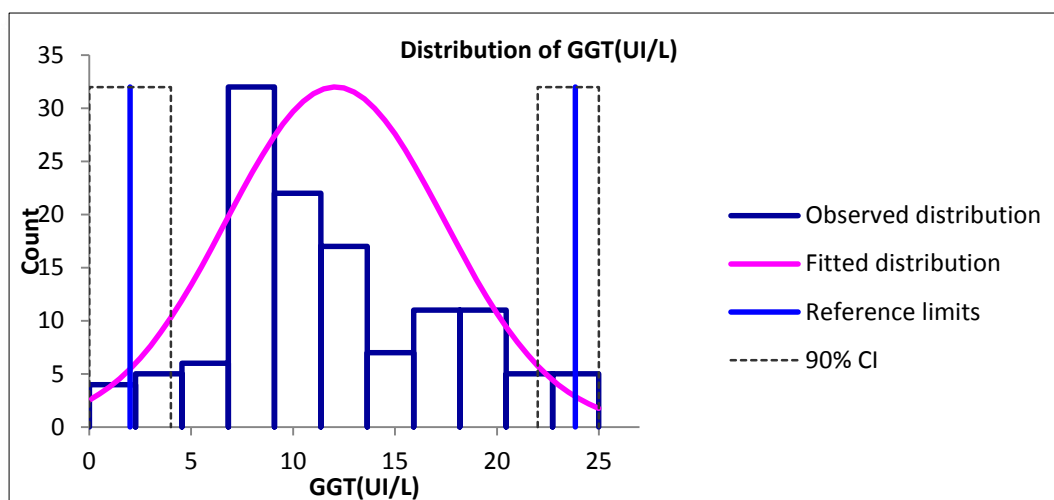


Figure N°40 : Distribution de la population d'étude selon le taux de la GGT.

Tableau N°34 : Intervalles de référence de la GGT.

Variable	Limite de référence inférieure [IC90%]	Limite de référence supérieure [IC90%]	Témoins dans IR %	Témoins hors IR %
IR Observé	2,0[0; 4]	23,85 [22; 25]	100	00
IR ADVIA	0	38		
Test Binomial	P=1,0000			

Il existe aucune différence significative $P=1,000$ entre les valeurs observées et les valeurs de l'intervalle de référence de l'ADVIA.

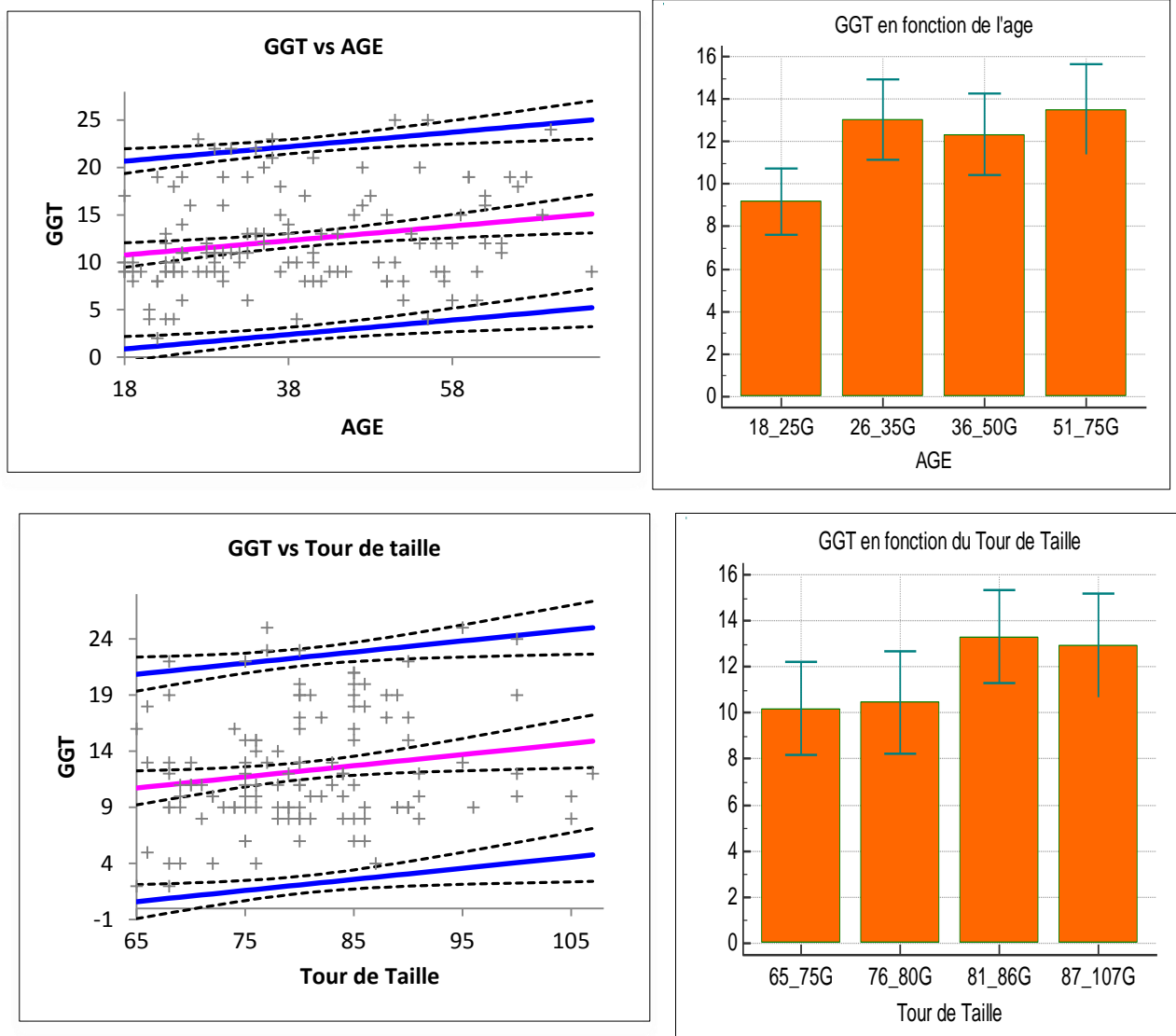


Figure N°41 : GGT en fonction de l'âge et du tour de taille.

Test ANOVA (comparaison entre les groupes d'âge, et tour de taille) montre de différence significative $P=0,0251$ entre les groupes d'âge et pas de différence significative entre les groupes du tour de taille. En utilisant une méthode paramétrique on remarque une légère augmentation avec l'Age $P=0,015$, et une légère augmentation non significative $P=0,053$ en fonction du tour de taille.

3.3. Bilirubine totale

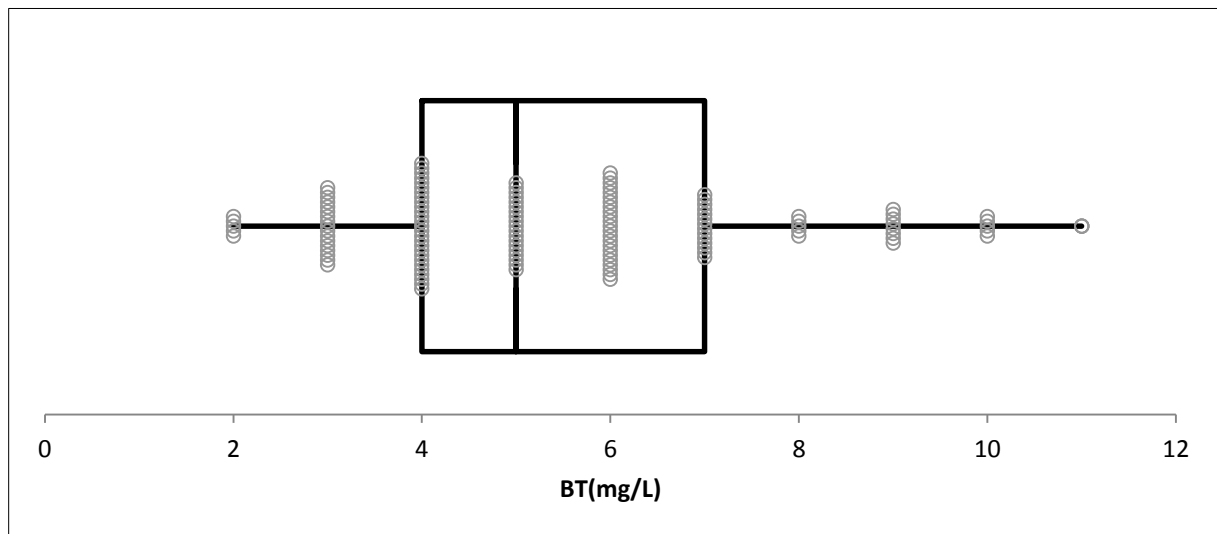


Figure N°42 : Répartition des données de la bilirubine totale sans les valeurs aberrantes.

Tableau N°35 : Données statistiques pour la bilirubine totale.

Statistique	BT (mg/L)
Nb. d'observations	126
Minimum	2,000
Maximum	11,000
1er Quartile	4,000
Médiane	5,000
3ème Quartile	7,000
Moyenne	5,516
Variance (n-1)	4,732
Ecart-type (n-1)	2,175

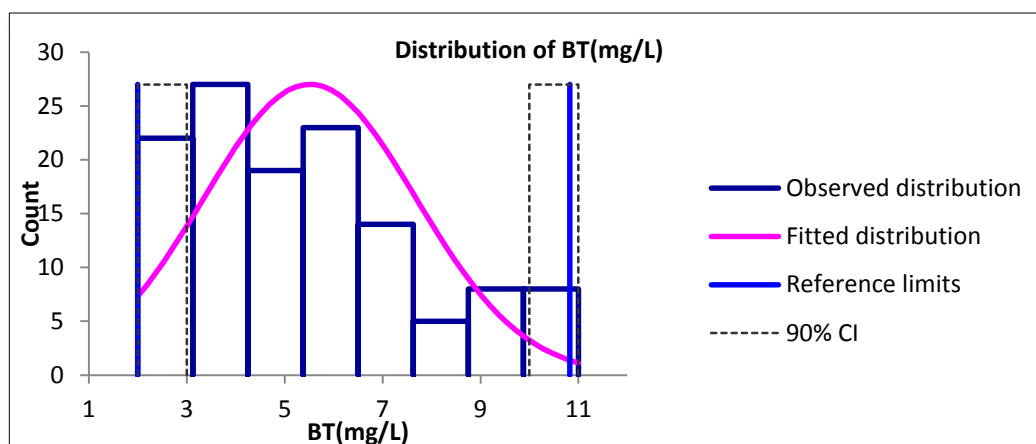


Figure N°43 : Distribution de la population d'étude selon le taux de la bilirubine totale

Tableau N°36 : Intervalles de référence de la bilirubine totale.

Variable	Limite de référence inférieure [IC90%]	Limite de référence supérieure [IC90%]	Témoins dans IR %	Témoins hors IR %
IR Observé	2,0[2; 3]	10,825[10; 11]	95	05
IR ADVIA	3	12		
Test Binomial	P=0,614			

La différence est non significative entre les valeurs observées et les valeurs de l'intervalle de référence de l'ADVIA P=0,614

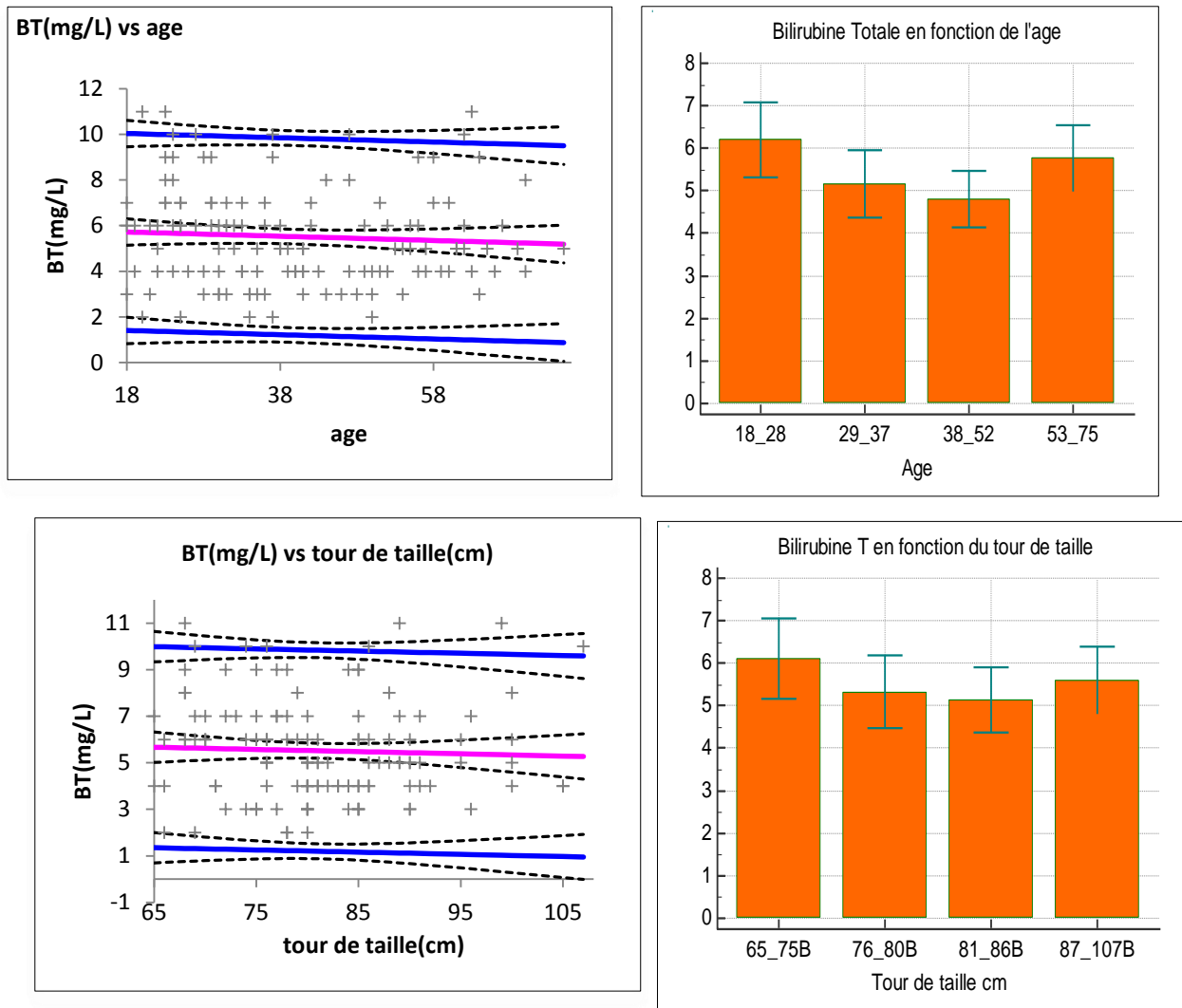


Figure N°44 : Bilirubine totale en fonction de l'âge et tour de taille.

Test ANOVA (comparaison entre les groupes d'âge, et tour de taille) ne montre pas de différence significative entre les groupes d'âge et ni entre les groupes du tour de taille. En utilisant une méthode paramétrique en remarque pas de différence ni en fonction de l'Age ($P=0,48$), ni en fonction du tour de taille ($P=0,658$).

3.4. Bilirubine directe

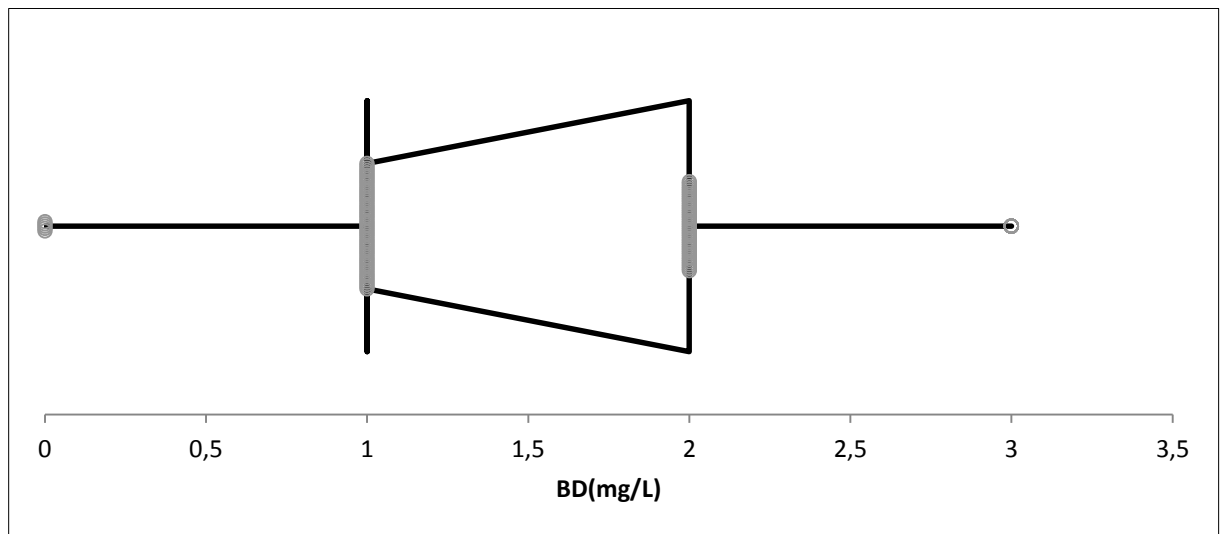


Figure N°45 : Répartition des données de la bilirubine directe sans les valeurs aberrantes.

Tableau N°37 : Données statistiques pour la bilirubine directe.

Statistique	BD (mg/L)
Nb. d'observations	120
Minimum	0,000
Maximum	3,000
1er Quartile	1,000
Médiane	1,000
3ème Quartile	2,000
Moyenne	1,608
Variance (n-1)	0,644
Ecart-type (n-1)	0,802

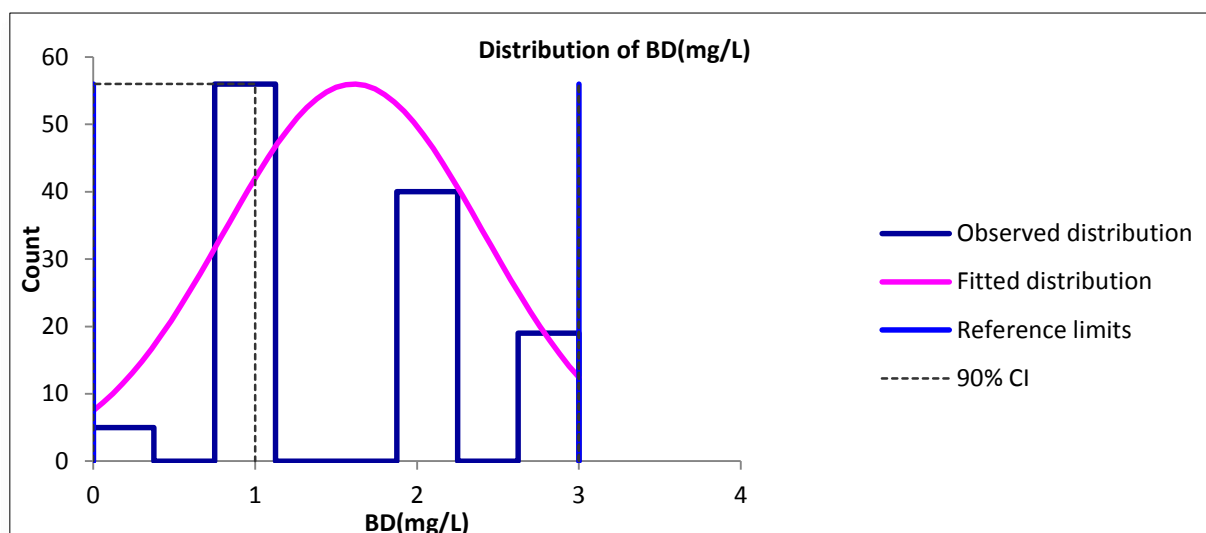


Figure N°46 : Distribution de la population d'étude selon le taux de la bilirubine directe.

Tableau N°38 : Intervalles de référence de la bilirubine directe.

Variable	Limite de référence inférieure [IC90%]	Limite de référence supérieure [IC90%]	Témoins dans IR %	Témoins hors IR %
IR Observé	0[0; 1]	3[3; 3]	84	16
IR ADVIA	0	2		
Test Binomial	P<0,0001			

Il y a une différence significative entre les valeurs observées et les valeurs de l'intervalle de référence de l'ADVIA P<0,0001

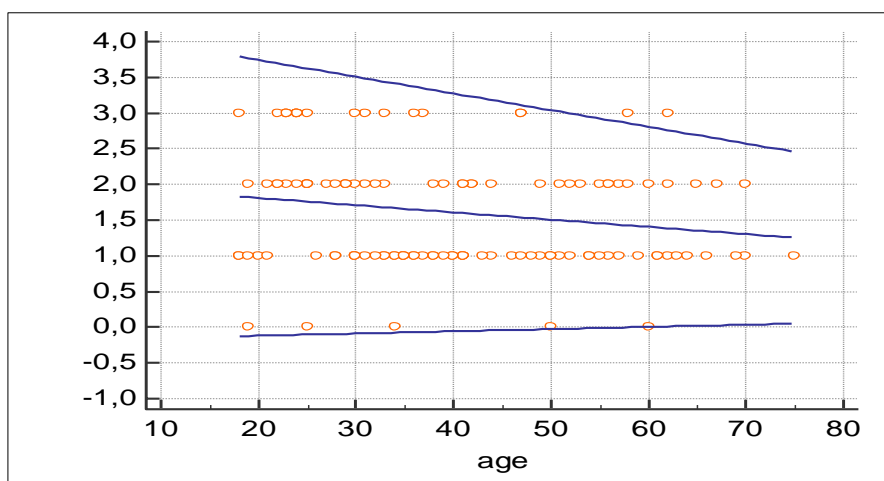


Figure N°47 : Bilirubine directe en fonction de l'âge

Test ANOVA (comparaison entre les groupes d'âge, et tour de taille) ne montre pas de différence significative entre les groupes d'âge et ni entre les groupes du tour de taille.

En utilisant une méthode paramétrique en remarque pas de différence ni en fonction de l'âge, ni en fonction du tour de taille.

3.5. Aspartate amino-transférase

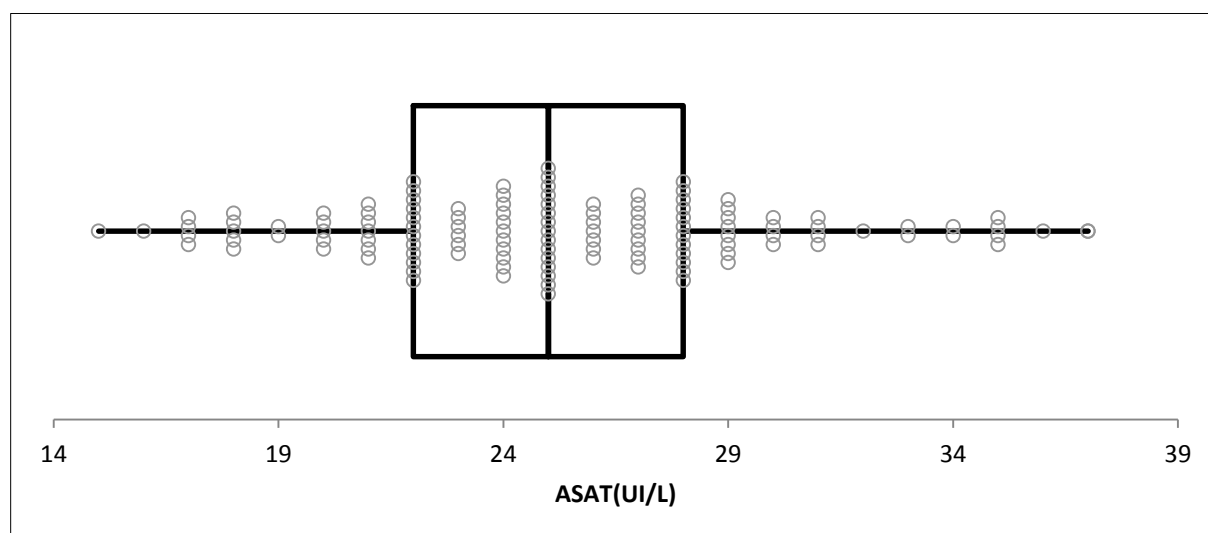


Figure N°48 : Répartition des données de l'ASAT sans les valeurs aberrantes.

Tableau N°39 : Données statistiques pour l'ASAT.

Statistique	ASAT (UI/L)
Nb. d'observations	125
Minimum	15,000
Maximum	37,000
1er Quartile	22,000
Médiane	25,000
3ème Quartile	28,000
Moyenne	25,344
Variance (n-1)	22,502
Ecart-type (n-1)	4,744

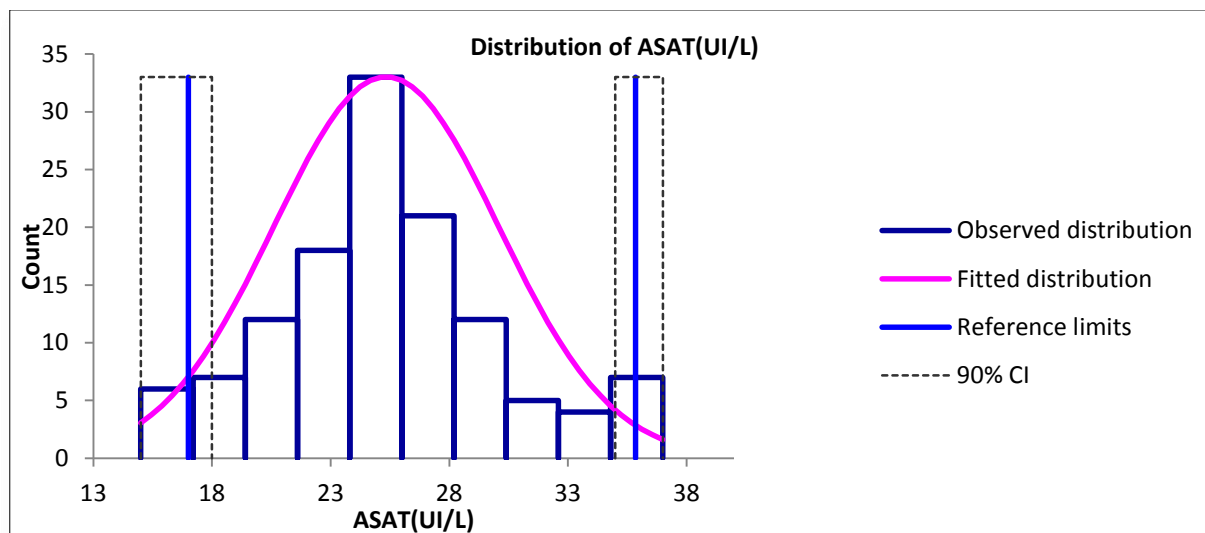
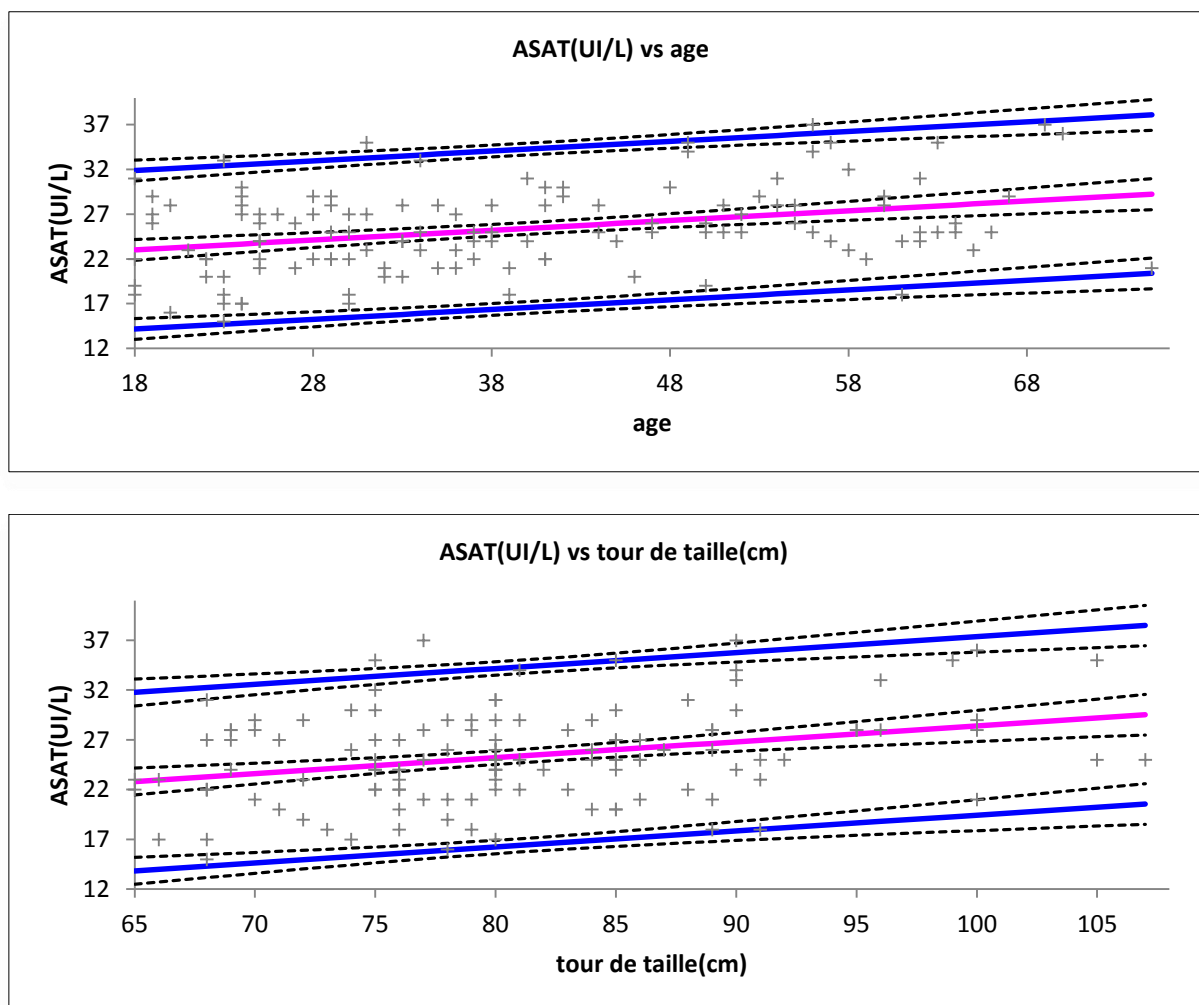
**Figure N°49 : Distribution de la population d'étude selon le taux de l'ASAT.**

Tableau N°40 : Intervalles de référence de l'ASAT.

Variable	Limite de référence inférieure [IC90%]	Limite de référence supérieure [IC90%]	Témoins dans IR %	Témoins hors IR %
IR Observé	17[15; 18]	35,85[35; 37]	94	06
IR ADVIA	0	34		
Test Binomial	P=0,4348			

La différence est non significative entre les valeurs observées et les valeurs de l'intervalle de référence de l'ADVIA. P =0,4348.

**Figure N°50 : ASAT en fonction de l'âge et du tour de taille.**

Test ANOVA (comparaison entre les groupes d'âge, et tour de taille) ne montre pas de différence significative entre les groupes d'âge et ni entre les groupes du tour de taille. En utilisant une méthode paramétrique en remarque une légère augmentation significative en fonction de l'âge ($P < 0,0001$), et en fonction du tour de taille ($P < 0,0001$).

2.3.6. Alanine aminotransférase

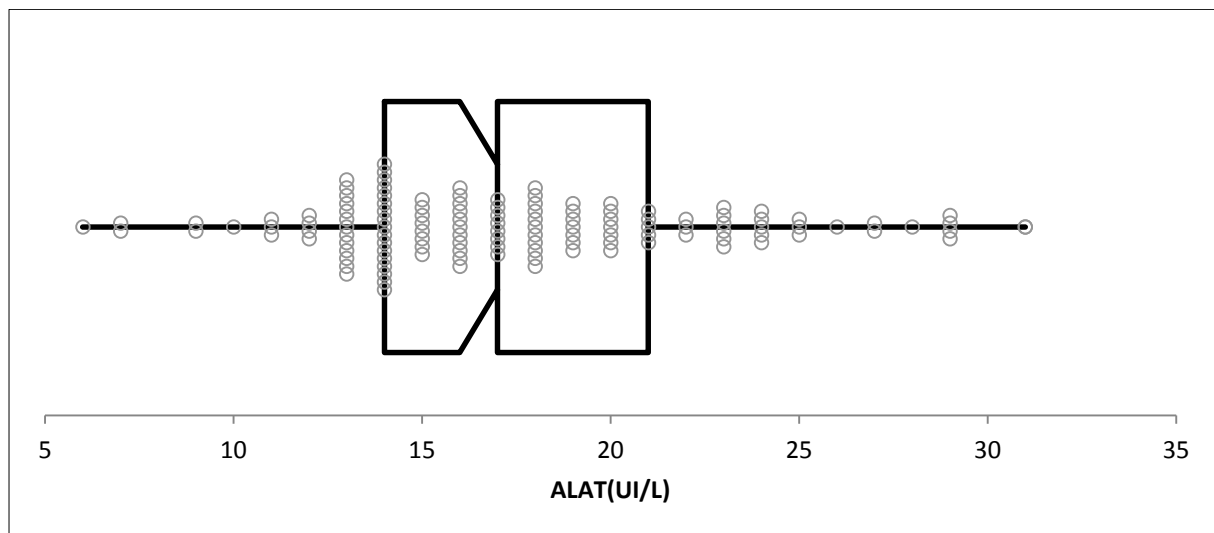


Figure N°51 : Répartition des données de l'ALAT sans les valeurs aberrantes.

Tableau N°41 : Données statistiques pour l'ALAT.

Statistique	ALAT (UI/L)
Nb. d'observations	127
Minimum	6,000
Maximum	31,000
1er Quartile	14,000
Médiane	17,000
3ème Quartile	20,500
Moyenne	17,551
Variance (n-1)	26,599
Ecart-type (n-1)	5,157

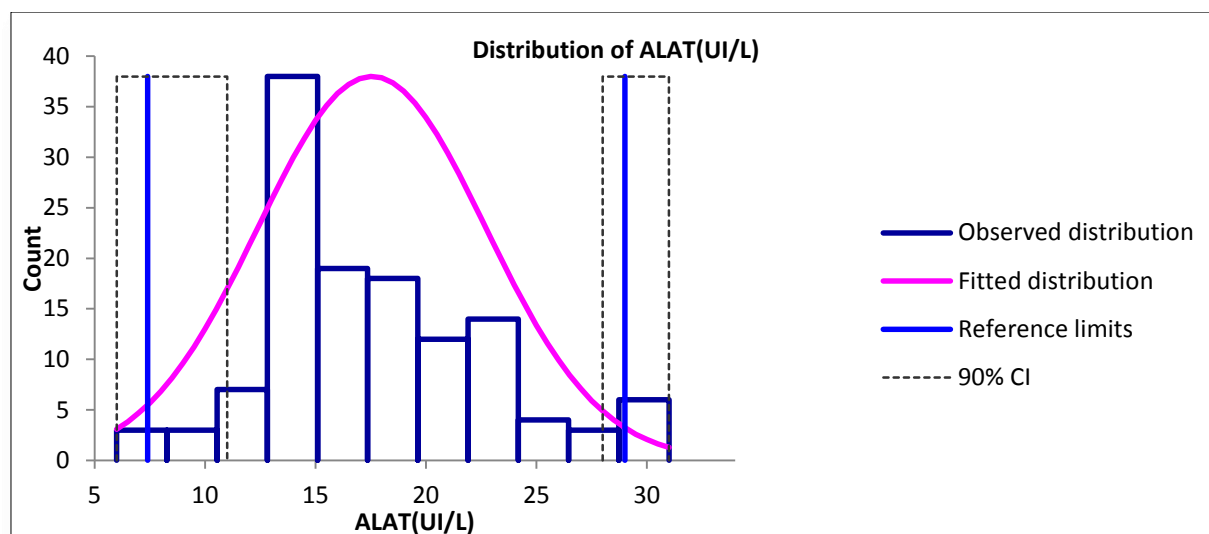


Figure N°52 : Distribution de la population d'étude selon le taux de l'ALAT

Tableau N°42 : Intervalles de référence de l'ALAT.

Variable	Limite de référence inférieure [IC90%]	Limite de référence supérieure [IC90%]	Témoins dans IR %	Témoins hors IR %
IR Observé	7,4[6,0 ; 11,0]	29[28; 31]	96	04
IR ADVIA	10	49		
Test Binomial	P=0,7662			

La différence est non significative entre les valeurs observées et les valeurs de l'intervalle de référence de L'ADVIA P=0,7662

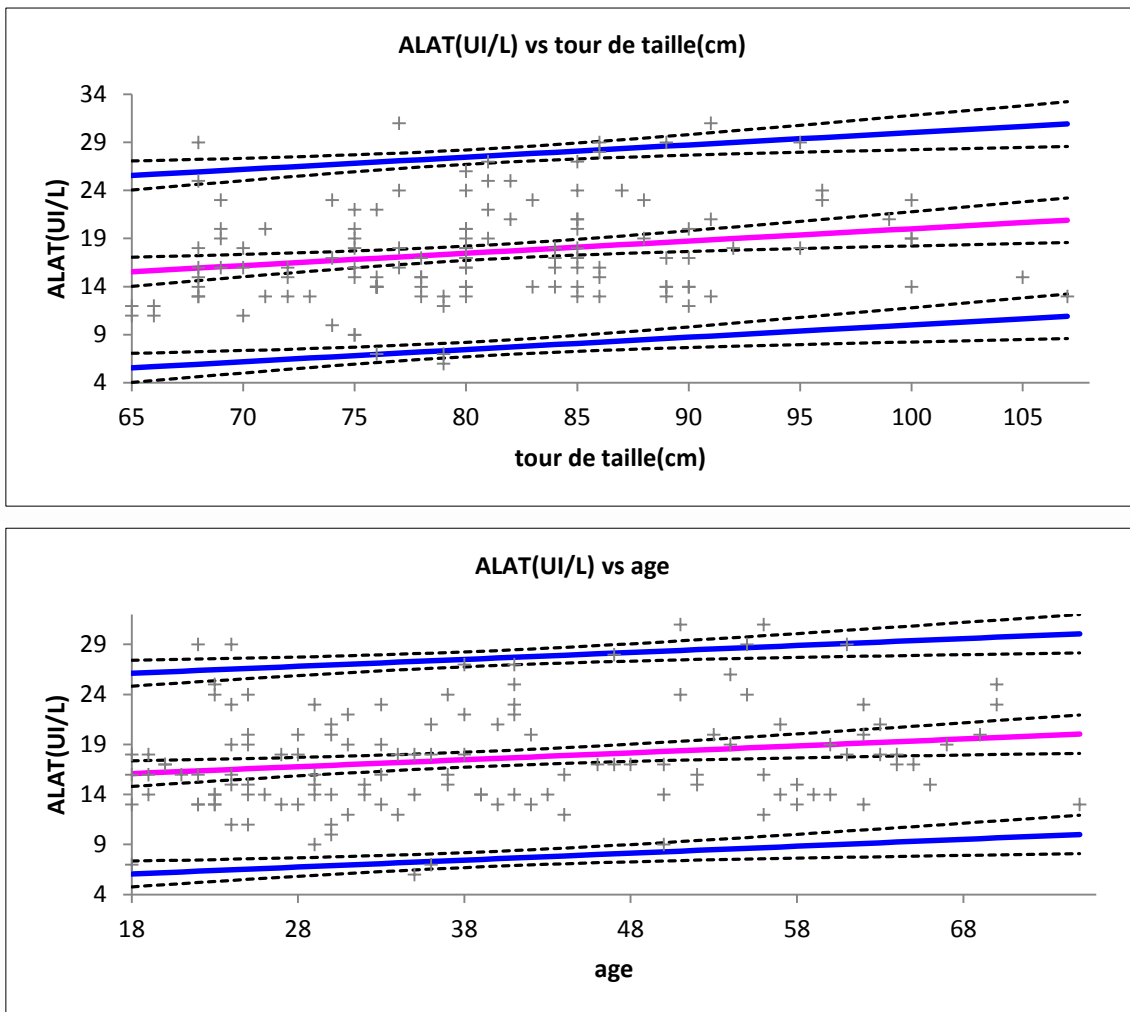


Figure N°53 : ALAT en fonction de l'âge et tour de taille.

Test ANOVA (comparaison entre les groupes d'âge, et tour de taille) ne montre pas de différence significative entre les groupes d'âge et ni entre les groupes du tour de taille. En utilisant une méthode paramétrique en remarque une légère augmentation significative en fonction de l'Age ($P=0,022$), et en fonction du tour de taille ($P=0,013$).

DISCUSSION

Glycémie

IR ADVIA [0.74-1.06] g/l, IR observé : [0.70-1.06] g/l

On observe que la limite inférieure de l'intervalle obtenu est en dessous de la limite inférieure de l'intervalle de l'Advia, Néanmoins, La différence est non significative $P=0.2810$ entre les deux intervalles, ce qui nous permet d'accepter la transférabilité de IR. Aussi, Les résultats sont cohérents avec la littérature, qui admet pour les non diabétiques une glycémie inférieure à 1,10 g/l. ce qui est le cas des IR rendu dans les comptes rendus des résultats (0,7 – 1,1)

Cependant, les résultats obtenus sont différents des dernières recommandations de ADA 2017 (American Diabetes Association), qui définissent le seuil de la glycémie à jeun à 1 g/l. Le taux moyen de glycémie de notre population est de 0.863 avec une majorité de la population ayant un taux entre 0.80 et 0.95 g/l (inf à 1 g/l). Néanmoins, 9,6 % de notre population à une glycémie > 1 g/l avec une moyenne de 1,03 g/l.

La glycémie est un paramètre qui reflète l'équilibre glucidique avec toute sa complexité, et interaction avec les autres métabolismes. Une Hyperglycémie définit les états de Pré Diabétique et Diabétique, qui sont un véritable fléau de la santé publique, ce qui nous conduit à une réflexion plus approfondie sur le seuil à valider par le laboratoire pour définir une hyperglycémie.

Une légère augmentation est constatée de la glycémie avec l'âge particulièrement pour la classe (52 – 75 ans), et aussi avec le tour de taille, ce qui est le signe du vieillissement et de l'installation éventuelle du début de l'insulinorésistance ou insulinopénie, retard de sécrétion de l'insuline, et modifications de la composition corporelle avec l'âge. Cependant, ceci ne modifie en rien les critères de diagnostic de l'état de pré ou diabétique.

Cholestérol total

IR ADVIA : [1.1-2.4] g/l, IR observé : [1.09-2.35] g/l

La différence entre les deux intervalles est non significative voire inexistante avec un $P=0.9810$, ce qui nous permet d'accepter la transférabilité de IR pour une valeur supérieure de 2,4 g/l.

Cependant, le National Cholesterol Education Program dans les recommandations ATP III, définit le seuil optimal du cholestérol est de 2 g/l. Le taux moyen du cholestérol total de notre population est de 1.668 avec une majorité de la population ayant un taux entre 1.40 et 1.60 g/l. Cependant, avec une limite supérieure de 2 g/l, il existe une différence significative $P=0.0006$ entre les valeurs observées et les valeurs de l'Advia et 13 % de notre population a un cholestérol $> 2\text{g/l}$.

L'augmentation du cholestérol est directement liée à l'augmentation du risque cardiovasculaire, première cause de mortalité en Algérie ; il est souhaitable d'adopter dans notre laboratoire le seuil optimal de 2 g/l ; et non IR 2,4 g/l, afin d'insister à plus de prudence.

On remarque aussi une augmentation en fonction de l'âge et en fonction du tour de taille. En effet dans la littérature, la cholestérolémie chez les femmes augmente graduellement avec l'âge à partir de l'enfance pour atteindre un plateau vers les soixantaines, sans modifications de l'IR ou du seuil optimal. Cependant, des études sont en cours pour évaluer la nécessité du traitement des Hypercholestérolémie chez les personnes âgées.

Triglycérides

IR ADVIA : [0.50-2.00] g/l, IR observé : [0.48-1.96] g/l

La différence est non significative voire inexistante $P=0.9984$ entre les valeurs observées et les valeurs de l'Advia ; ce qui nous permet d'accepter la transférabilité de IR pour une valeur supérieure de 2 g/l.

Cependant, les recommandations en terme seuils des lipides (NCEP _ ATP III), préconisent un maximum de 1.50 g/l comme seuil supérieur souhaitable. Le taux moyen en triglycérides est de 0.999 avec une majorité de la population ayant un taux entre 0.5 et 1,5 g/l. Néanmoins, 13,5 % de notre population a un taux de TG $> 1,5\text{ g/l}$; avec une moyenne de 1,76 g/l. là aussi nous préconisant l'utilisation du seuil de 1,5 g/l au lieu de IR de l'Advia.

On observe aussi une augmentation en fonction de l'âge et en fonction du tour de taille

✚ HDL-cholestérol**IR ADVIA : [0.40-0.60] g/l, IR observé : [0.30-0.69] g/l**

Il existe une différence significative $P < 0.0001$ entre les valeurs observées et les valeurs de l'Advia, ce qui nous ne permet pas d'accepter IR de Advia. 22 % de notre population à un HDL $< 0,4$ g/l (IR Advia) avec une moyenne de 0,35 g/l ; et si nous prenons 0,5 g/l qui est le seuil souhaitable chez les femmes définit dans les recommandations ; 50 % de notre population à un taux HDL $< 0,5$ g/l avec une moyenne de 0,40 g/L. En général, Le taux moyen est de 0.486 avec une majorité de la population ayant un taux entre 0.35 et 0.60 g/l.

HDL Cholestérol est un élément primordial et joue un rôle protecteur contre les maladies cardiovasculaires (athérosclérose) ; ceci nous amène à préconiser une étude pour expliquer cette tendance à des valeurs basses de HDL ; et ce, sur le plan analytique en évaluant les performances de notre système d'analyse ; puis sur le plan épidémiologique (habitude alimentaire, clinique, génétique ...). Afin de mieux cerner cette tendance, et améliorer la prise en charge.

✚ LDL-cholestérol**IR ADVIA : < 1.6 g/l, IR observé : [0.56-1.51] g/l**

Aucune différence significative entre les valeurs observées et les valeurs de l'Advia n'a été observée $P = 1.0000$ avec 100% des témoins entrant dans l'intervalle de référence de l'Advia. Ce qui nous permet de valider ce seuil.

Le taux moyen est de 0.965 avec une majorité de la population ayant un taux entre 0.80 et 1.1 g/l.

Aussi, le seuil souhaitable de LDL, dépend du nombre des facteurs de risque, il peut être $< 0,55$ g/l chez les personnes à Risque extrême ; jusqu'à $< 1,6$ g/L. Nous n'avons pas étudié le nombre de facteurs de risque, et notre population est présumé saine. Il est souhaitable de rappeler dans le compte rendu des résultats le tableau relatif aux normes des LDL en fonction du contexte.

✚ Phosphatases alcalines

IR ADVIA : [45-129], IR observé : [23 -102] UI/L

Il existe une différence significative $P < 0.0001$ entre les valeurs observées et les valeurs de l'Advia. Ce qui nous ne permet pas d'accepter la transférabilité de l'IR.

Nous remarquons, un IR observé plus bas que l'IR de l'Advia, et ceci pour la limite inférieure et la limite supérieure et 21 % de notre population sont inférieurs à 45 UI/L. Le taux moyen est de 60.008 avec une majorité de la population ayant un taux entre 40 et 69 UI/L.

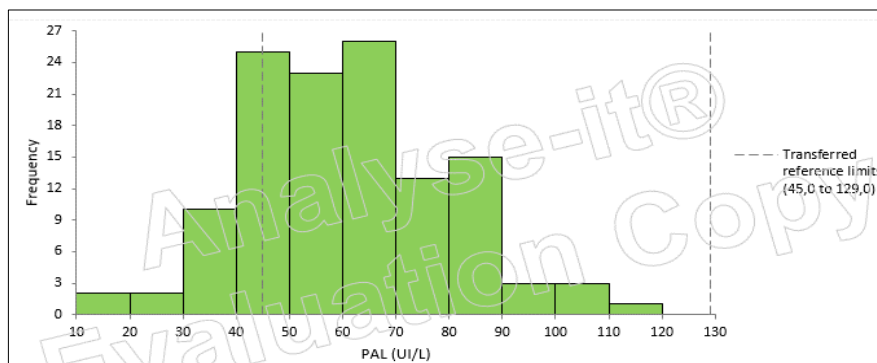


Figure N°54 : Situation des des IR obtenus par rapport aux IR del'Advia®1800.

Vu l'importance de ce paramètre qui reflète par sa diminution une insuffisance hépatique ou une maladie héréditaire ; et par son augmentation des pathologies osseuses, hépatiques, intestinales ... Nous préconisons d'établir IR de la PAL dans la population de notre région, par une autre étude plus ciblée (PAL) et dans la rigueur de la procédure de CLSI.

✚ Gamma glutamyl transférase

IR ADVIA : [0-38], IR observé : [2-24] UI/L

Aucune différence entre les valeurs observées et les valeurs de l'Advia n'a été observée $P=1.0000$ avec 100% des témoins entrant dans l'intervalle de référence de l'Advia. Ce qui nous permet d'accepter la transférabilité de l'IR.

Cependant, le taux moyen est de 11.00 avec une majorité de la population ayant un taux entre 7 et 14 UI/L. Nous remarquons une limite supérieure de l'Advia 38 UI/L plus élevé que la

limite supérieure observée dans notre population de 24 UI/L. Nous recommandons de limiter la GGT à 24 UI/L au lieu de 38 UI/L qui est 1,6 fois plus élevé que 24.

Bilirubine totale _ Bilirubine directe

BT: IR ADVIA : [03-12], IR observé : [2.0-11] mg/l

La différence est non significative $P=0.614$ entre les valeurs observées et les valeurs de l'Advia avec 95% des témoins entrant dans l'intervalle de référence de l'Advia. Ce qui nous permet d'accepter la transférabilité de l'IR de l'advia.

Le taux moyen est de 5,516 avec une majorité de la population ayant un taux entre 2 et 6 mg/l. On ne remarque pas de différence en fonction de l'âge et du tour de taille.

BD: IR ADVIA : [0, 2], IR observé : [0,3] mg/l

La différence est statistiquement significative $P<0.0001$ entre les valeurs observées et les valeurs de l'Advia avec 84 % des témoins entrant dans l'intervalle de référence de l'Advia.

Ce qui nous ne permet pas d'accepter la transférabilité de IR de l'advia, sur le plan statistique ; il est vrai que 16 % des valeurs de notre population ont une BD > 2 mg/l avec une moyenne de 3 mg/l. Nous préconisons de garder IR (0 à 2 mg/l), car une différence de 1 mg/L n'est pas significative sur le plan biologique pour les adultes ; et l'incertitude de mesure de Advia pour BD n'a pas été évaluée ; valeurs qui peut expliquer une partie cette différence.

Aspartate amino transférase

IR ADVIA : [0-34], IR observé : [17-39] UI/L

La différence est non significative $P=0.4348$ entre les valeurs observées et les valeurs de l'Advia avec 94% des témoins entrant dans l'intervalle de référence de l'Advia. Ce qui nous permet de valider la transférabilité de IR de l'advia.

Le taux moyen est de 25,34 avec une majorité de la population ayant un taux entre 22 et 28 UI/L. On observe une légère augmentation en fonction de l'âge et du tour de taille

✚ Alanine amino transférase**IR ADVIA : [10-48], IR observé : [7-29] UI/L**

La différence est non significative $P=0.7662$ entre les valeurs observées et les valeurs de l'Advia avec 96% des témoins entrants dans l'intervalle de l'Advia Ce qui nous permet de valider la transférabilité de IR de l'advia. On remarque une légère augmentation en fonction de l'âge et du tour de taille.

Cependant, le taux moyen est de 17.551 avec une majorité de la population ayant un taux entre 13 et 20 UI/L. Nous remarquons une limite supérieure de l'Advia 48 UI/L plus élevé que la limite supérieure observée dans notre population de 29 UI/L. Nous recommandons de limiter la ALAT à 29 UI/L au lieu de 48 UI/L qui est 1,6 fois plus élevé que 29 ;

❖ Difficultés rencontrées au cours de la réalisation de ce travail :

- ✓ Difficulté de trouver des femmes au-delà de 55 ans remplissant les critères d'inclusion et exemptes de critères d'exclusions ;
- ✓ Par l'absence de normes du tour de taille de notre population, il nous a été difficile d'appréhender la définition de l'obésité ou du surpoids dans notre population.
- ✓ Absence de contrôle sur le temps de jeun, l'alimentation, la prise de médicaments la veille du prélèvement ;
- ✓ Population non homogène de par les données anthropométriques, le mode de vie et le cycle menstruel ;
- ✓ Absence d'examen clinique antérieur au prélèvement ce qui pose une certaine incertitude sur l'état physiologique et pathologique ;
- ✓ Les prélèvements n'ont pas tous été effectués à la même heure ni au même endroit ;
- ✓ Difficulté dans la maîtrise du temps et des conditions d'acheminement ;

CONCLUSION GENERALE

Conclusion générale

Le bilan biochimique est un examen d'une importance cruciale dans le diagnostic de pathologies diverses et d'autant plus pour les maladies donc le dépistage et purement biologique.

La maîtrise des différentes analyses biochimiques passe par la connaissance des valeurs de référence sur lesquelles se base le clinicien et le biologiste.

Il est nécessaire et règlementaire que chaque laboratoire fasse sa propre série de valeurs de référence pour l'interprétation des résultats.

Les intervalles obtenus après cette étude sont compatibles avec la littérature, et la comparaison avec les intervalles de référence de l'ADVIA ne montre pas une grande différence pour la plupart des paramètres.

Enfin ce travail ouvre les portes à d'autres perspectives à savoir : essai d'établissement des valeurs de référence biochimiques pour d'autres tranches d'âge ex : chez l'enfant, et les personnes âgées ; ou encore un essai d'établissement des valeurs de référence biochimiques chez les hommes adultes.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- [1] : Geffré A. Nouvelles approches de la production d'intervalles de référence de populations [Thèse]. Université de Toulouse ; 01 Juil 2011.
- [2] : Henny J. Etablissement et validation des intervalles de référence au laboratoire de biologie médicale. Annales de biologie clinique. Vandoeuvre-lès-Nancy ; 2011. p. 229-37.
- [3] : Libbey J. Réviser le concept de valeurs de référence, une nécessité : Ann biol clin [En ligne]. Juil-Août 2001 [consulté le 02/03/2017] ; 59(4). Disponible sur <http://www.jle.com>
- [4] : Henny J, Arnaud J, Giroud C, Vassault A et les membres du sous-groupe 2 analytique. Intervalles de référence : détermination et vérification. Ann biol clin 2010 [consulté le 15/03/2017] ; 68(hors série n°1) : [09 pages]. Disponible sur <http://www.Jle.com>
- [5] : Njikeutchi FN. Contribution à l'établissement des valeurs de référence de paramètres biologiques chez le burkinabé : Evaluation de cinq constituants biochimiques [Thèse]. Ouagadougou : Centre Hospitalier National Yelgado Ouédraogo ; 2002-2003.
- [6] : Coulibali JL. Contribution à l'établissement des valeurs de paramètres biologiques de référence chez le burkinabé adulte : Evaluation des paramètres témoins du profil lipidique [Thèse]. Ouagadougou : Centre Hospitalier National Yelgado Ouédraogo ; 2002-2003.
- [7] : Decool V. Etablissement des intervalles de référence au laboratoire d'analyses médicales. Formation médicale continue. Tourcoing ; 15 Déc 2015.
- [8] : ISO 15189. Laboratoires de biologie médicale. Exigences concernant la qualité et la compétence [En ligne]. 2012 [Consulté le 16/04/2017]. Disponible sur : <http://www.iso.org>
- [9] : International federation of clinical chemistry and laboratory medicine IFCC. About us [En ligne]. 2000-2017 [Consulté le 16/04/2017]. Disponible sur : <http://www.ifcc.org>
- [10] : Clinical and laboratory standards institute. About CLSI [En ligne]. [Consulté le 16/04/2017]. Disponible sur <http://www.clsi.org>
- [11] : Wikipédia, l'encyclopédie libre. Disponible sur : <http://www.wikipedia.org>
- [12] : Jeff. Glycémie Taux normal et élevé, bilirubine totale et directe. [En ligne]. Juin 2017 [Consulté le 03/02/2017]. Disponible sur : <http://www.santé-medecine.journaldesfemmes.com>
- [13] : Ménil-Mamert V, Pagnier V, Dominique R. Glucose et glycémie. [En ligne]. 2016 [Consulté le 11/01/2017]. Disponible sur : <http://www.diabete.ooreka.fr>
- [14] : Simon M. Métabolisme des glucides. [En ligne]. 08 oct 2009 [Consulté le 15/02/2017]. Disponible sur : <http://www.cours-pharmacie.com>

- [15] : Dahmani O, Belcaid A, Elazzouzi O, Elhami H. Regulation de la glycémie. [En ligne]. Oct 2010 [Consulté le 10/03/2017] ; Q26 : [6 pages]. Disponible sur : <http://www.natyinfirmiere.files.wordpress.com>
- [16] : Legrand A. Delcorso, Garnotel R. Le guide des examens biologiques, réalisé avec le soutien des laboratoires Merck Génériques, Mylan et avec la collaboration de la société française de biologie clinique et de la section G de l'ordre des pharmaciens ; 18 Jan 2008 ; p. 5, 7, 8, 9, 10, 26, 52.
- [17] : Montjaux N, Bossard G. Hypoglycémie chez le nouveau né à terme ou proche du terme. [En ligne]. Hôpital des enfants Toulouse, Centre Hospitalier de Cahors ; Juin 2012. [Consulté le 28/01/2017]. Disponible sur : <http://www.chu-toulouse.fr>
- [18] : Le Figaro. Analyses de sang. Glycémie, quels sont les chiffres. [En ligne]. [Consulté le 17/03/2017]. Disponible sur : <http://www.santé.lefigaro.fr>
- [19] : Unilab. Lg. Référentiel des examens. Biologie Clinique-Génétique-Anatomie et Cytologie Pathologique. Scope (ISO 15189)-Scope (ISO 17025). [En ligne]. Liège [Consulté le 09/03/2017]. Disponible sur : <http://www.chu.ulg.ac.be>
- [20] : Gills C, Moley M, Benlakehal M, Bousquet B, le Bricon T. Séparation électrophorétique des isoenzymes de la phosphatase alcaline par le kit hydragel 15 Iso-PAL®. [En ligne] ; 01 Jan 2002. [Consulté le 10/02/2017] ; 17(6) : p. 395-400. Disponible sur : <http://www.em-consulte.com>
- [21] : Hennen G. Biochimie humaine. Introduction biochimique à la médecine interne. De Boeck. Tours. Bruxelles édition ; 1996
- [22] : Jurgen S. phosphatases alcalines. Université de Montréal ; Département de biochimie. BCM 1521 ; 19 Jan 2017
- [23] : Level A, Olivier AC, Povignon JP. Phosphatases alcalines : définition et interprétation du taux. [En ligne] [Consulté le 15/02/2017]. Disponible sur : <http://www.osteoporose.ooreka.fr>
- [24] : Dombrowski Q. Gamma glutamyl transférase. [En ligne] [Consulté le 20/01/2017]. Disponible sur : <http://www.futura-sciences.com>
- [25] : Guellaen G. Rôle physiologique de la gamma glutamyl transpeptidase. Medecine sciences. [En ligne] ; 1989. [Consulté le 05/03/2017] ; [8 pages]. p. 637-44.
- [26] : Igléssias A, Cardemas J. Santé : Analyses médicales. [En ligne] ; Avr 2017. [Consulté le 20/04/2017]. Disponible sur ; <http://www.doctissimo.fr>

- [27] : Sidy S. Etude de la variation des paramètres biochimiques et hématologiques dans le district de Bamako [Thèse]. Université de Bamako ; 2008.
- [28] : Guemouri L. Contribution au développement d'une méthode de dosage immunologique de la γ -glutamyl-transférase humaine [Thèse]. Toubkal : Le Catalogue National des Thèses et Mémoires ; 23 Jul 1987.
- [29] : Bioloabo. Bilirubine totale et directe, méthode à l'acide sulfanilique. [En ligne]. Les hautes Rivières Maizy. France ; 26 Jul 2011. [Consulté le 18/02/2017]. Disponible sur ; <http://www.biolabo.fr>
- [30] : Caquet R. 250 examens de laboratoire. 11^{ème} éd. Elsevier Masson éditions ; 2010. p. 65-66.
- [31] : Menecier D. Métabolisme et excrétion de la bilirubine. [En ligne] ; 2000-2009. [Consulté le 18/12/2016]. Disponible sur ; <http://www.hepatoweb.com>
- [32] : Hughes J, Jefferson A. Le bilan biochimique facile. Elsevier Masson éditions ; 2009. p. 149-51.
- [33] : Caquet R. Guide infirmier des examens de laboratoire. Elsevier Masson éditions ; 2008. p. 57.
- [34] : Chibah A. Les enzymes sériques. Cours de 4^{ème} année pharmacie. Tizi Ouzou : Université Mouloud Mammeri- Faculté de Médecine ; 2014-2015.
- [35] : Experts de passeport santé. Dosage des transaminases dans le sang [En ligne] ; Août 2015. [Consulté le 03/04/2017]. Disponible sur ; <http://www.passeportsante.net>
- [36] : Caquet R. 250 examens de laboratoire. 12^{ème} éd. Elsevier Masson éditions ; 2015. p. 505-11.
- [37] : Chibah A. Métabolisme des lipides. Cours de 4^{ème} année pharmacie. Tizi Ouzou : Université Mouloud Mammeri- Faculté de Médecine ; 2014-2015.
- [38] : Goldman R. The recommended cholesterol levels by age. 24 Avr 2017. [Consulté le 05/05/2017]. Disponible sur ; <http://www.healthline.com>
- [39] : Valdigué P. Biochimie Clinique. 2^{ème} éd. TEC et DOC éditions ; 23 Déc 2000. p. 171-75.
- [40] : Lahouel FZ. Métabolisme des triglycérides. Université de Mostaghanem-Faculté de Médecine. Disponible sur ; <http://www.univ.ency.education.com>
- [41] : American Association For Clinical Chemistry. Understanding analyts [En ligne] ; 1^{er} Jul 2016. [Consulté le 19/04/2017]. Disponible sur ; <http://www.labtrtonline.org>

[42] : Memobio. Métabolisme des lipoprotéines. Site d'aide à la réalisation et l'interprétation des analyses de biologie médicale. Disponible sur ; <http://www.memobio.fr>

[43] : Béméziat G, Bentiam P. X Française des laboratories. Volume 01. Elsevier éditions. p. 68-69.

ANNEXES

ETUDE SUR LES VALEURS DE REFERENCE BIOCHIMIQUES CHEZ LA FEMME ADULTE

Fiche de renseignements

Date : **Heure :** **Jeun (≥ 12 h) : Oui** **Non** **Fiche remplie par :**

Critères d'inclusion

Etes-vous saine ? Oui Non **Jour**
Etes-vous âgée de plus de 18 ans ? Oui Non

Critères d'exclusion

Avez-vous une maladie chronique? Oui Non
Avez-vous une maladie aiguë ? Oui Non
Etes-vous enceinte ? Oui Non
Etes-vous allaitante ? Oui Non
Etes-vous fumeuse ou alcoolique ? Oui Non
Avez-vous pris des médicaments les 10 jours passés? Oui Non
Avez-vous été hospitalisée il y a 4 semaines de ça?
 Oui Non
Avez-vous donné du sang il y a 3 mois de ça ?
 Oui Non
Etes-vous volontaire dans un essai clinique d'une étude ? Oui Non

Identification :

Nom : **Prénom :**
Date et lieu de naissance :
Age : **Origines des parents :**
 Père :
 Mère :
Résidence :
Environnement : Ville Village
 Montagne Altitude
Situation socio-économique: Etudiante
 Femme au foyer Fonctionnaire
Niveau intellectuel : Illettrée Primaire
 Moyen Secondaire Universitaire

Données anthropométriques

Taille (cm) : **Poids (kg) :** **Tour de taille :**
(cm) : **Groupe sanguin :** A B
 AB O non déterminé

Cycle menstruel

Jour du cycle : **Nature du cycle :**
 Régulier Irrégulier
 Ménoposé Traitement contraceptif
 S'il est régulier, quelle est sa durée moyenne ? jrs.

Mode de vie

Habitudes alimentaires : Traditionnelle
 Fastfood Mixte
Activité physique : active sédentaire
 sportive
 Si vous pratiquer un sport, lequel ?
 Combien d'heure par semaine :

Antécédents pathologiques familiaux

Pathologies	Lien de parenté

Consentement éclairé :

Signature :

Remarques :

ANNEXE

GLYCEMIE

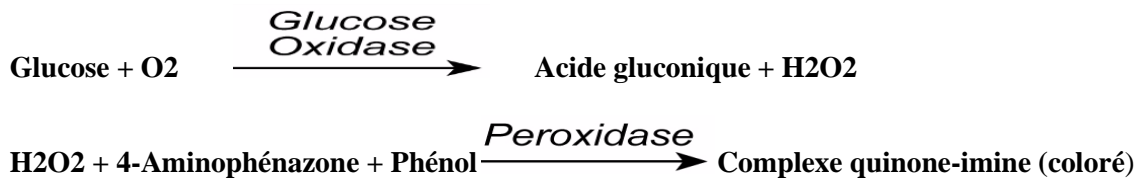
a) Principe de la procédure

La méthode de Trinder à la glucose oxydase (gluo) est basée sur la méthode de Keston ou le glucose est dosé après oxydation enzymatique en présence de glucose oxydase, le peroxyde d'hydrogène qui se forme entre en réaction catalytique sous l'action de la peroxydase et réagit avec le phénol et la 4-aminophénazone pour former un indicateur quinone-imine de coloration rouge violet. L'absorbance de l'indicateur est mesurée par spectrophotométrie à 505/694 nm.

b) Type de réaction

Ce dosage utilise la méthode point final.

c) Equation de la réaction



CHOLESTEROL

a) Principe de la procédure

La méthode Cholestérol (CHOL) est basée sur une technique enzymatique faisant appel à une conversion par la cholestérol estérase et la cholestérol oxydase, appréciée au point de virage du réactif de Trinder.

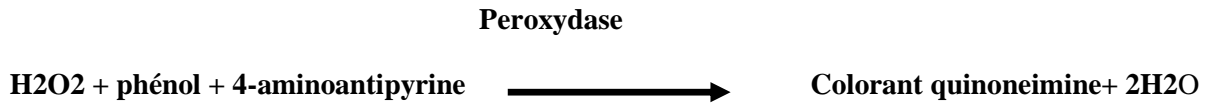
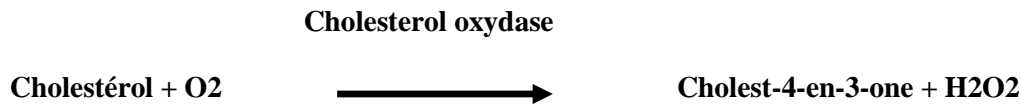
Les esters de cholestérol sont hydrolysés par la cholestérol estérase en cholestérol et en acides gras libres. Le cholestérol est converti en cholestérol-3-one par la cholestérol oxydase en présence d'oxygène pour former du peroxyde d'hydrogène. Un complexe coloré se forme à partir du peroxyde d'hydrogène, de la 4-aminoantipyrine et du phénol sous l'action catalytique de la peroxydase. L'absorbance du complexe est mesurée au point de virage de la réaction à 505/694 nm.

b) Type de réaction

Ce dosage utilise la méthode point final.

c) Equation de la réaction





✚ TRIGLYCERIDES

a) Principe de la procédure

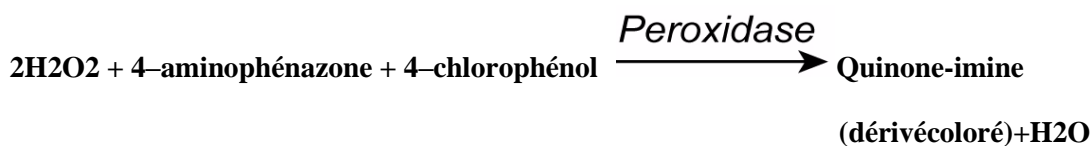
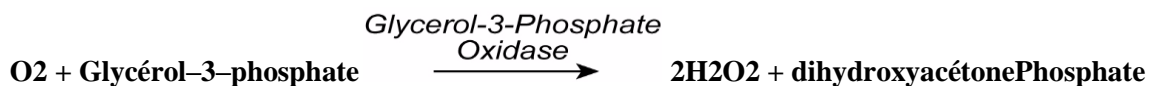
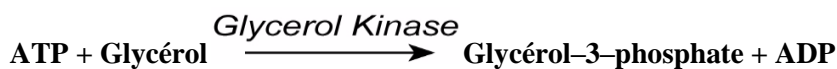
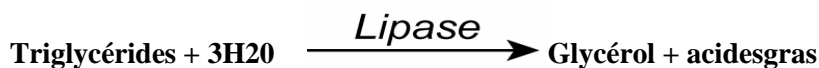
La méthode Triglycérides (TRIG) est basée sur la réaction enzymatique en trois étapes de Fossati avec une réaction de Trinder en point terminal. La procédure qui utilise un réactif unique quantifie les triglycérides totaux y compris les mono et les diglycérides, ainsi que les fractions libres du glycérol.

Les triglycérides sont transformés en glycérol et en acides gras libres par la lipase. Le glycérol est ensuite transformé en glycérol-3-phosphate par la glycérol kinase, puis en peroxyde d'hydrogène par la glycérol-3-phosphate-oxydase. Un complexe coloré se forme à partir du peroxyde d'hydrogène, de la 4-aminophénazone et du 4-chlorophénol sous l'influence catalytique de la peroxydase. L'absorbance du complexe est mesurée au point de virage de la réaction à 505/694 nm.

b) Type de réaction

Ce dosage utilise la méthode point final.

c) Equation de la réaction



HDL-CHOLESTEROL

a) Principe de la procédure

La méthode est basée sur les procédures développées par Izawa, Okada et Matsui.

Le cholestérol provenant des particules non-HDL est libéré et éliminé au cours de la première étape de la réaction. Le cholestérol des particules HDL est libéré au cours de la deuxième étape par le détergent contenu dans le R2. Le cholestérol HDL est mesuré par la réaction de Trinder.

La méthode est constituée de deux étapes réactives distinctes :

Étape 1 : Elimination des chylomicrons, du cholestérol VLDL et du cholestérol LDL par la

cholestérol-estérase et la cholestérol-oxydase. Le peroxyde produit par l'oxydase est éliminé par la catalase.

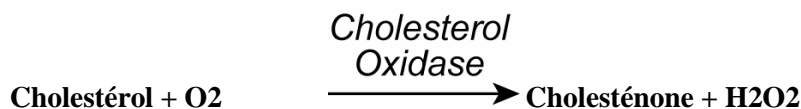
Étape 2 : Mesure spécifique du cholestérol HDL après libération du cholestérol HDL par le surfactant contenu dans le réactif 2. La catalase de l'étape 1 est inhibée par l'azide de sodium du R2. L'intensité de la production de quinone-imine colorée par la réaction de Trinder, mesurée à 596/694 nm, est directement proportionnelle à la concentration en cholestérol.

b) Type de la réaction

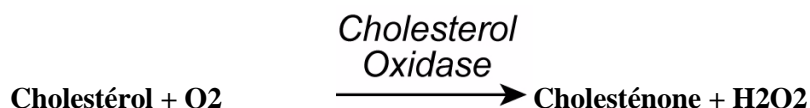
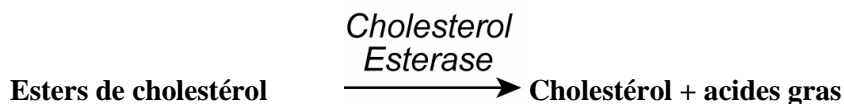
Ce dosage utilise la méthode cinétique en deux points.

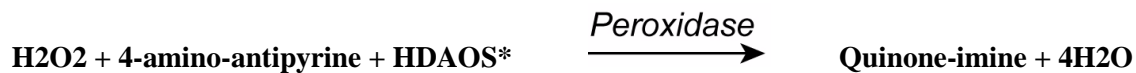
c) Equation de la réaction

Étape 1 :



Étape 2 :





Où HDAOS = N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-diméthoxyaniline.

LDL-CHOLESTEROL

a) Principe de la procédure

La première étape de la réaction élimine le cholestérol associé aux lipoprotéines autres que les lipoprotéines de basse densité. Un tensioactif sélectif libère préférentiellement le cholestérol contenu dans les particules autres que les LDL. Le peroxyde d'hydrogène produit par l'action de la cholestérol estérase et la cholestérol oxydase lors de la première étape est éliminé par la catalase. Un autre tensioactif contenu dans le réactif R2 libère le cholestérol des lipoprotéines de basse densité. L'azide du réactif R2 inhibe la catalase. Le peroxyde d'hydrogène produit par l'action de la cholestérol estérase et la cholestérol oxydase est quantifié via le point de virage du réactif de Trinder

La méthode est constituée de deux étapes réactives distinctes :

Etape 1 : La cholestérol estérase et la cholestérol oxydase éliminent le cholestérol autre que celui des lipoprotéines de basse densité. L'action de la catalase élimine le peroxyde produit par l'oxydase.

Etape 2 : Un dosage spécifique du cholestérol LDL est effectué après sa libération par le tensioactif contenu dans le réactif 2. La catalase de l'étape 1 est inhibée par l'azide de sodium du R2. L'intensité du colorant quinone-imine produit lors de la réaction de Trinder, mesurée à 596 nm, est directement proportionnelle à la concentration en cholestérol.

b) Type de réaction

Ce dosage utilise la méthode point final.

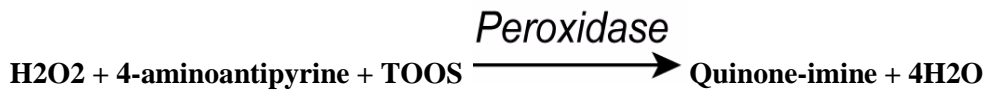
c) Equation de la réaction

Etape 1 :



Etape 2 :





Où TOOS = N-éthyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3-méthylaniline]

✚ PHOSPHATASES ALCALINES

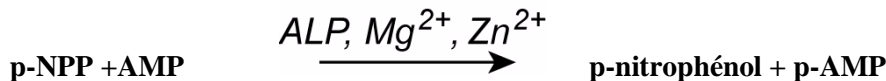
a) Principe de la procédure

La méthode est basée sur les travaux de Tietz, et al. La phosphatase alcaline hydrolyse le substrat *p*-NPP pour former du *p*-nitrophénol. La réaction est suivie par la mesure colorimétrique à 410/478 nm de la vitesse de formation du *p*-nitrophénol, qui est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline. Un tampon 2-amino-2-méthyl-1-propanol (AMP) est utilisé pour maintenir le pH de la réaction entre 10,3 et 10,4. Des ions magnésium et zinc sont ajoutés au tampon AMP pour activer et stabiliser l'enzyme.

b) Type de réaction

Ce dosage utilise la méthode cinétique.

c) Equation de la réaction



✚ GAMMA GLUTAMYL TRANSFERASE

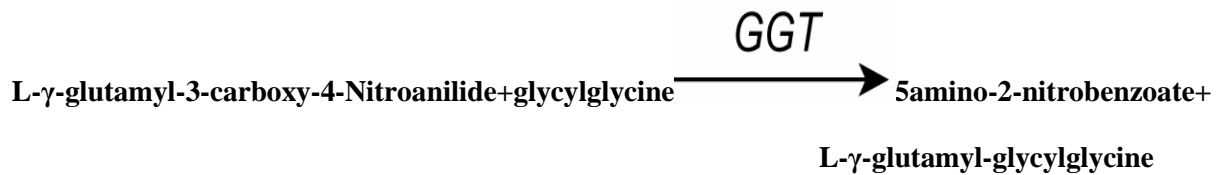
a) Principe de la procédure

La méthode est basée sur la procédure décrite par L.M. Shaw, et al. Au cours d'une réaction avec un substrat synthétique, le (L- α -glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide), la glycylglycine agit comme un accepteur vis-à-vis du résidu α -glutamyl et le 5-amino-2-nitro-benzoate (ANB) est libéré. L'absorption maximale du produit libéré est proche de 400 nm. La vitesse de formation est mesurée par photométrie à 410/478 nm, la cinétique du dosage étant d'ordre zéro.

b) Type de réaction

Ce dosage utilise la méthode cinétique

c) Equation de la réaction



✚ BILIRUBINE TOTALE

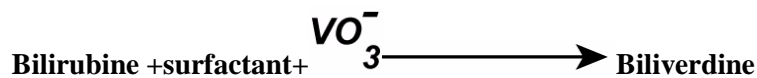
a) Principe de la procédure

La méthode repose sur une technique d'oxydation chimique utilisant le vanadate comme agent oxydant. La bilirubine est oxydée par le vanadate en biliverdine à pH 2,9 environ. En présence de détergent et de vanadate, la bilirubine conjuguée (directe) et la bilirubine non conjuguée sont oxydées. Cette réaction d'oxydation entraîne une diminution de la densité optique de la coloration jaune, qui est propre à la bilirubine. La diminution de la densité optique à 451/545 nm est proportionnelle à la concentration en bilirubine totale dans l'échantillon. La concentration est mesurée au point de virage de la réaction.

b) Type de réaction

Ce dosage utilise la méthode point final

c) Equation de la réaction



✚ BILIRUBINE DIRECTE

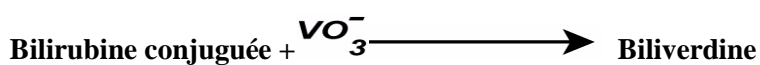
a) Principe de la procédure

La méthode repose sur une méthode d'oxydation chimique utilisant le vanadate comme agent oxydant. La bilirubine est oxydée par le vanadate en biliverdine à pH 3 environ. En présence de détergent et de vanadate, la bilirubine conjuguée (directe) est oxydée. Cette réaction d'oxydation entraîne une diminution de la densité optique de la couleur jaune, qui est propre à la bilirubine. La diminution de la densité optique à 451/545 nm est proportionnelle à la concentration en bilirubine directe dans l'échantillon. La concentration est mesurée au point de virage de la réaction.

b) Type de réaction

Ce dosage utilise la méthode point de virage.

c) Equation de la réaction



✚ ASPARTATE AMINO TRANSFERASE

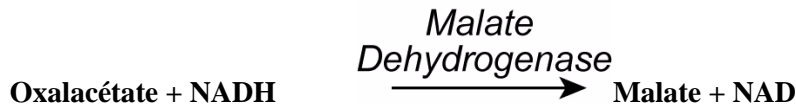
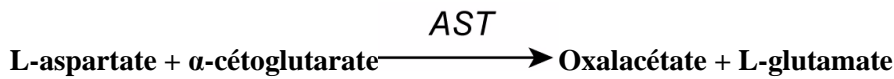
a) Principe de la procédure

La méthode est basée sur les travaux de Karmen. Cette procédure a été modifiée par la suite par H.U. Bergmeyer. Les réactifs AST sont formulés conformément aux recommandations de l'IFCC. La concentration en NADH est mesurée par son absorbance à 340/410 nm, le taux de diminution de l'absorbance étant proportionnel à l'activité AST. La réaction est déclenchée par l'ajout d' α -cétoglutarate en tant que second réactif.

b) Type de réaction

Ce dosage utilise la méthode cinétique.

c) Equation de la réaction



✚ ALANINE AMINO TRANSFERASE

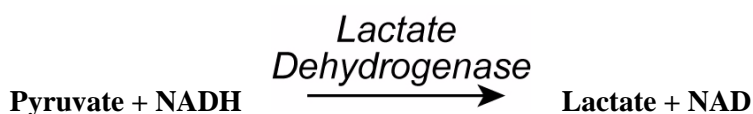
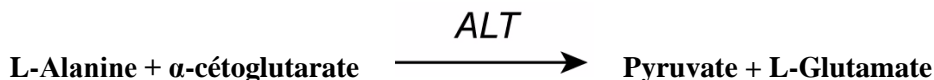
a) Principe de la procédure

La méthode de dosage est basée sur les travaux de Wroblewski et LaDue. Cette procédure a été modifiée par la suite par H.U. Bergmeyer. La réaction est initiée par l'ajout d' α -cétoglutarate en tant que second réactif. La concentration en NADH est mesurée par son absorption à 340/410 nm et le taux de diminution d'absorption est proportionnel à l'activité de l'alanine aminotransférase.

b) Type de réaction

Ce dosage utilise la méthode cinétique.

c) Equation de la réaction



Résumé :

L'établissement des valeurs de référence constitue un maillon indispensable dans les bonnes pratiques de laboratoire. En effet cette notion se trouve changée en fonction de la méthode analytique utilisée et de la population de référence choisie.

Ce travail réalisé au niveau du laboratoire central de biochimie du centre hospitalo-universitaire NEDIR Mohamed Tizi-Ouzou, a porté sur la transférabilité des paramètres biochimiques : la glycémie, du bilan lipidique et du bilan hépatique chez 133 femmes adultes âgées de plus de 18 ans présumées saines et résidentes à Tizi-Ouzou ou Bouira.

Les résultats obtenus ont permis de comparer des IR observé avec les IR proposés par le fournisseur l'ADVIA® 1800 ; ainsi que l'étude de l'influence de l'âge et de tour de taille sur IR. Pour la plupart des paramètres, nous avons des IR similaires, cependant, des différences significatives ont été observées pour HDL et la PAL, ainsi que pour les limites supérieures de l'IR de la GGT et la ALAT.

Mots clés : valeur de référence, population de référence, intervalle de référence, transférabilité.

Abstract:

The establishment of reference value is an indispensable link in good laboratory practice. Indeed, this notion is changed according to the analytical method used and the chosen reference population.

This work carried out at the central biochemistry laboratory of the NEDIR Mohamed Tizi-Ouzou University Hospital Center includes tests to the transferability of some biochemistry parameters: blood glucose, lipid and liver balance sheet test among 133 adult women over the age of 18 presumed to be healthy and resident in Tizi-Ouzou or Bouira.

The results obtained made it possible to compare observed reference intervals with the intervals proposed by the supplier ADVIA®1800, As well as the study of the influence of age and waist circumference on the reference interval

For most parameters, we have similar reference intervals, however, significant differences were observed for HDL-cholesterol and alkaline phosphatase, as well as for the upper limits of the GGT reference interval and the ALAT.

Key words: reference values, reference population, reference interval, transferability.