

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de L'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI-OUZOU



FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE ET MICROBIOLOGIE

Mémoire de Fin d'Etudes

Science de la nature et de la vie

Filière : sciences biologiques

Spécialité : biochimie appliquée

Présenté par :

Nasri Younes

Thème

Etude comparative des résultats du dosage de la glycémie, la phosphatase alcaline et le calcium dans deux automates différentes.

Devant le jury composé de :

Promoteur : Mr M. Mamou

M C A

UMMTO

Co promotrice : Dr. AKLI

Assistante

CHU de Tizi-Ouzou

Pr Président du jury : Mr Mati. A

M C B

UMMTO

Examineur : Mr Sebbane. H

M C B

UMMTO

Promotion : 2020/2021

Remerciements

Je remercie tout d'abord le bon Dieu tout puissant qui m'a donné le courage, la volonté et la patience pour mener à terme toutes ces années d'études afin de me permettre de présenter ce mémoire.

Il est sincèrement agréable d'exprimer ma reconnaissance à l'égard de tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail, en particulier :

J'exprime ma gratitude envers ma famille qui a su être là pour moi et pour leur soutien durant tout ce long cursus.

Je remercie mon promoteur Pr M. Mamou, et ma Co promotrice Dr AKLI. K pour leur aides, les conseils qu'ils m'ont prodigués, et les efforts qu'ils ont déployés tout au long de la réalisation de ce travail. Qu'ils soient assurés de mon profonde gratitude.

J'exprime également ma reconnaissance à tous les enseignants et à toute l'équipe du laboratoire de biochimie.

Je remercie également l'examineur Mr Sebban H d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail et de l'enrichir par ses propositions et ses corrections très intéressantes et le président de jury Pr A. Mati qui m'a fait le grand honneur d'accepter la présidence de ce mémoire.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexes et ont accepté de me rencontrer et répondre à mes questions durant la réalisation de mon travail.

☞Merci

Dédicaces

A la fin de mémoire, il est de tradition d'exprimer ses reconnaissances

A l'égard de ceux qui avec leurs apports multiformes on a contribué à l'aboutissement et la réussite de celle-ci

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut ...

Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude et l'amour le respect la reconnaissance

Aussi c'est tout simplement que je dédié ce mémoire

A mes chers parents

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour moi

Puisse dieu, le très haut accorder santé bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je vous déçoive

A mes frères

En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès, et que dieu tout puissant vous protègent et vous gardent pour moi

Et un spécial dédicace a « la famille de laboratoire, de biochimie (l'unité de belloua) » « je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de santé ».

N.Younes

Résumé :

De nos jours, la technologie évolue dans le monde de la science sans cesse, ce développement provient de l'apparition de plusieurs techniques et de méthodes d'analyse.

Comme pour chaque domaine, les laboratoires des analyses médicales sont aussi concernés par ces techniques. Mais le problème qui se pose à chaque fois c'est la fiabilité et la précision de ces instruments.

L'objectif de cette étude était de comparer les résultats du dosage de quelques paramètres biochimiques obtenus sur deux automates Horiba pentra Abx C 400 et Dimension Siemens RXL Max pour prouver l'existence d'une concordance ou discordance entre les résultats donnés par ces deux automates. Les études statistiques « test de student » ont montré que les résultats obtenus par les deux automates sont comparables et la différence entre eux est statistiquement non significative.

Les mots clés : *Paramètres Biochimiques, Student, Statistiques, Comparaison.*

SOMMAIRE :*Liste des abréviations**Liste des figures**Liste des tableaux***Introduction..... 12****Partie A : Synthèse bibliographique****Chapitre I Généralités sur le glucose, calcium et la phosphatase alcaline**

I.	Le glucose.....	2
I.1.	Définition	2
I.2.	Principales voies métaboliques du glucose	2
I.3.	Transport du glucose.....	2
I.3.1.	Transport facilité.....	3
I.3.2.	Transport actif secondaire	3
I.4.	La glycémie et analyses médicales	4
II.	Le Calcium.....	4
II.1.	Métabolisme de calcium	5
II.1.1.	Métabolisme du calcium	5
II.1.1.1.	Besoin et apport.....	5
II.1.1.2.	Absorption.....	5
II.1.1.3.	Elimination.....	5
II.1.1.4.	Répartition.....	6
II.1.1.5.	Le calcium plasmatique existe sous deux formes :.....	6
II.1.1.6.	Rôles	6
II.2.	Exploration du métabolisme calcium.....	6
II.2.1.	Calcium	6
II.2.1.1.	Le calcium total	6
II.2.1.2.	Le calcium ionisé.....	7
II.3.	Calcium urinaire	8
II.4.	Régulation	8

III.	Phosphatase alcaline.....	8
III.1.	Définition.....	8
III.2.	Indications.....	9
III.3.	Conditions de prélèvement.....	9
III.4.	Valeurs physiologiques.....	9
III.5.	Le rôle de la Pal.....	9
III.5.1.	Augmentation ou diminution de la phosphatase alcaline.....	9
III.5.2.	Conséquences d'une carence en phosphatase alcaline.....	10

Chapitre II Méthodes de dosage

I.	Dosage de la calcémie.....	11
I.1.	Méthodes colorimétriques.....	11
I.1.1.	Ortho crésolphtaléin.....	11
I.1.2.	Bleu de méthyl thymol.....	11
I.1.3.	Arsenazo III.....	11
I.2.	Méthodes physiques.....	11
I.2.1.	Spectrophotométrie d'absorption atomique.....	11
I.2.2.	PhotoSmétrie à émission de flamme.....	12
I.2.2.1.	Méthodes potentiométriques.....	12
I.2.2.2.	Dosage du calcium ionisé.....	12
II.	Dosage de la glycémie.....	12
III.	Dosage de la PAL.....	14
III.1.	Principe général de la mesure d'une activité enzymatique.....	14
III.2.	Les différentes méthodes de dosage.....	14
III.2.1.	Méthode calorimétrique en point final.....	14
III.2.1.1.	Phosphatases alcalines déterminées par la méthode de Bodansky.....	14
III.2.2.	Méthode calorimétrique en cinétique.....	15
III.2.2.1.	Phosphatases alcalines déterminées par la méthode de Bessey Lowry.....	15

Chapitre III Généralité sur les tests exploités

I.	Les tests non paramétriques.....	16
II.	Les tests paramétriques.....	16
II.1.	Le test de Student.....	16

II.1.1. Cas d'un seul échantillon.....	18
II.1.2. Cas de deux échantillons indépendants.....	18
II.1.3. Cas de deux moyennes pour deux échantillons appariés	18
II.1.3.1. Contexte	18
II.1.3.2. Principe pour des échantillons appariés	18
II.1.3.3. Hypothèses de test et risque	18
II.1.3.4. Observations.....	18
II.1.3.5. Statistiques de test et lois sous H0.....	18

Partie B : Etude expérimentale

Matériel et méthodes

I. Présentation de l'organisme d'accueil	19
I.1. Description du CHU de Tizi-Ouzou Unité Belloua.....	19
I.2. Localisation et coordonnées L'hôpital Sidi Belloua.....	19
I.3. Construction	19
I.4. Organisation de l'hôpital Sidi belloua	19
I.5. Période et type d'étude.....	20
II. Matériels	20
II.1. Pentra C400-Horiba	20
II.1.1. Mode opératoire de l'automate ABX PENTRA C400	21
II.1.1.1. Principe	21
II.1.2. Réalisation de l'analyse sur ABX PENTRA C400	22
II.2. Dimension Rxl max	23
II.3. Autres matériels	23
Tableau III : Les réactifs.....	24
III. Méthodes analytiques de dosage de la glycémie, phosphatase alcaline et le calcium sur Horiba Pentra Abx 400 et Siemens Dimension Rxl.....	25
III.1. Les techniques du dosage des différents paramètres sur siemens dimension rxl max	25
III.1.1. La technique de dosage de la glycémie.....	25
III.1.1.1. Dosage de la glycémie.....	25
III.1.1.2. Principe	25
III.1.2. La technique de dosage du calcium	26

III.1.2.1. Dosage de calcium.....	26
III.1.2.2. Principe	26
III.1.3. La technique de dosage de la phosphatase alcaline	27
III.1.3.1. Les phosphatases alcalines.....	27
III.1.3.2. Principe	27
III.2. Les techniques du dosage de différents paramètres sur Horiba pentra abx C400...	28
III.2.1. Techniques de dosage du glucose.....	28
III.2.2. Principe	28
III.2.2.1. Méthode enzymatique (hexokinase).....	28
III.2.3. Echantillon	29
III.2.4. Valeurs normales	29
III.2.5. Volume de l'échantillon.....	29
III.2.6. Limite de détection	29
III.3. La technique de dosage du calcium.....	29
III.3.1. Dosage de calcium.....	29
III.3.2. Principe	29
III.3.3. Échantillon	30
III.3.4. Stabilité du réactif embarqué.....	30
III.3.5. Volume d'échantillon.....	30
III.3.6. Limite de détection	31
III.3.7. Limite de détermination quantitative	31
III.4. Technique de dosage l'ALP.....	31
III.4.1. Dosage de l'ALP	31
III.4.2. Principe	31
III.4.3. Utilisation.....	31
III.4.4. Échantillon	31
III.4.5. Valeurs normales	31
III.4.5.1. Adulte	31
III.4.5.2. Enfant.....	32
III.4.6. Volume de nécessaire de l'échantillon	32
III.4.7. Limite de détection	32
IV. Méthode d'étude.....	33
IV.1. Echantillonnage.....	33

IV.2. Dosage	33
 <i>Résultats et discussion</i>	
I. Résultats	36
I.1. Glycémie	36
I.1.1. Vérification de la normalité par le test de Shapiro-wilk	36
I.1.2. Comparaison des résultats par le test de student	36
I.2. Calcium	37
I.2.1. Vérification de la normalité par le test de Shapiro-wilk	38
I.2.2. Comparaison des résultats par le test de student	38
I.3. Phosphatases alcalines	38
I.3.1. Vérification de la normalité par le test de Shapiro-wilk	39
I.3.2. Comparaison des résultats par le test de student	39
I.4. Répartition des patients selon le sexe :	39
I.5. Répartition des patients selon le service d'admission :	40
II. Discussions	41
II.1. Glycémie	41
II.1.1. Vérification de la normalité selon le test de Shapiro-Wilk	41
II.1.2. Comparaison des résultats obtenus selon le test de student	41
II.2. Calcium	41
II.2.1. Vérification de la normalité selon le test de Shapiro-Wilk	41
II.2.2. Comparaison des résultats obtenus selon le test de student	41
II.3. Phosphatases alcaline	42
II.3.1. Vérification de la normalité selon le test de Shapiro-Wilk	42
II.3.2. Comparaison des résultats obtenus selon le test de student	42
Conclusion :	43

Liste des abréviations

¹⁸F-FDG	Le Fluorodésoxyglucose (¹⁸ F)
AA	Acides aminés
ADA	American Diabetes Association
ADP	Acide adénosine diphosphate
ASAT	L'aspartate amino-transférase
ATP	Adénosine triphosphate
Ca²⁺	Calcium
CHU	Centre hospitalier universitaire
CK	La créatine kinase
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMIA	Dosage immunologique micro particulaire chimiluminescence
ECL	Electrochimiluminescence
G6PDH	Glucose 6 phosphate dysodrogénase
GAD	Antiglutamate décarboxylase
GDH	Glucose dysodrogénase
GGT	Gamma Glutamyl transférase
GH	L'hormone de croissance
GLUT	Transporteur de glucose
GOD	Glucose oxydase
HbA1C	Hémoglobine glyquée
HGPU	Hyperglycémie provoqué par voie oral
HK	Hexokinase
ISE	Electrode sélective des ions
LDH	La lactico-déshydrogénase
MDH	Malate déshydrogénase
NADPH	Nicotinamide adénine di nucléotides phosphate
NIR	Infrarouge proche
OMS	Organisation mondiale de la santé
PAL	Phosphatase alcaline
POD	Glucose peroxydase
PTH	La Parathormone
SGLT	Sodium glucose cotransporteur
TAT	Thematic Apperception Test

Liste des figures

Figure 1 : La formule du glucose	2
Figure 2 : Transport facilité	3
Figure 3: Transport actif secondaire	3
Figure 4 : Schéma de principe d'un spectrophotomètre d'absorption atomique.	12
Figure 5 : Schéma réactionnel par la méthode de Trinder.	13
Figure 6 : Schéma réactionnel avec mesure de la production d'oxygène.	13
Figure 7 : Schéma réactionnel avec lecture à 340 nm.	14
Figure 8 : picture of The ABX Pentra 400	20
Figure 9 : Principe du spectrophotomètre de l'ABX PENTRA C400.	21
Figure 10 : Automate SIEMENS Dimension Rxl Max®	23
Figure 11 : Répartition des patients selon le sexe.	39
Figure 12 : Répartition des patients selon le service d'admission.	40

Liste des tableaux

Tableau I: les trois états de glycémies	4
Tableau II: Autres matériels utilisé.	23
Tableau III: Les réactifs.	Erreur ! Signet non défini.
Tableau IV: Les valeurs normal de la Pal chez les enfants.	32
Tableau V: Résultats de la glycémie.	36
Tableau VI: Résultats du calcium.	37
Tableau VII: Résultats de la PAL.	38

Introduction



Les examens de laboratoire s'introduisent dans une démarche préventive, diagnostique, pronostique et thérapeutique, ainsi la désignation de multiples voies pour traiter diverses pathologies.

Les analyses biochimiques sanguines servent à mesurer la quantité des substances chimiques dans les liquides biologiques pour évaluer le fonctionnement des organes, ainsi pour détecter certaines anomalies.

Année après année, le nombre d'analyses biologiques requises ne cesse d'augmenter. Avec le développement de la technologie, certains examens sont réalisés avec des équipements sophistiqués qui permettent d'obtenir des résultats biologiques précis dans un temps record.

Parmi ces analyses on cite : La glycémie, le calcium et la Pal qui sont des examens plus au moins utilisés dans le laboratoire pour suivre l'état fonctionnel de l'organisme et faciliter le diagnostic précoce des maladies.

Dans ce stage on remarque qu'un seul ou plusieurs paramètres biochimiques peuvent être analysés par plusieurs automates. Ces observations conduisent à une comparaison entre deux automates.

La méthode de biologie médicale doit permettre d'obtenir le résultat le plus proche de la vraie valeur. La différence entre la valeur renvoyée par une technologie et la valeur du résultat d'une autre technologie affectera le suivi.

Dans ce sens, on a choisi d'effectuer une étude comparative entre deux automates différents. Afin de découvrir s'il y a une différence significative entre les résultats obtenus par les deux automates.

Le problème qui se pose est-ce que ces deux automates donnent des résultats concordants pour les différents paramètres « glycémie, calcium et la Pal » ?

Partie A : Synthèse bibliographique



Chapitre I

Généralités sur le glucose, calcium et la phosphatase alcaline

I. Le glucose

I.1. Définition

Le glucose est la principale source d'énergie du corps humain. Il appartient à la famille des glucides présents dans l'alimentation et généralement lié à des glucides plus complexes. Ceux-ci seront ensuite digérés par des enzymes, qui permettront l'assimilation du glucose une fois qu'il atteint l'intestin grêle. Il peut être brûlé, transformé en graisse ou en glycogène, et stocké dans les muscles et le foie. [1]

La formule moléculaire du glucose est $C_6H_{12}O_6$, qui consiste en liaisons C-H, O-H et C=O. La présence de ces liaisons entraîne l'absorption de la lumière NIR dans le sang ou d'autres composants du sang humain. [2]

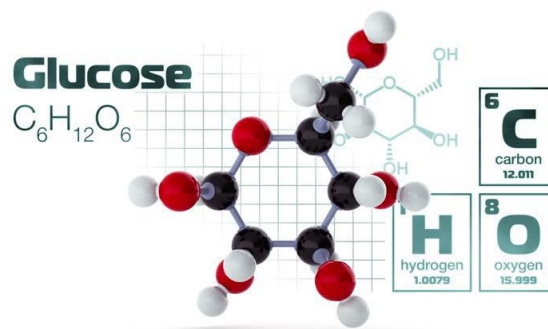


Figure 1 : La formule du glucose. [3]

I.2. Principales voies métaboliques du glucose

- ❖ La glycolyse : l'oxydation à 6 carbones en deux molécules de pyruvate à 3 carbones a pour but de transférer et libérer une partie d'énergie de glucose. [4] [7]
- ❖ La néoglucogenèse : produit le glucose à partir du lactate, du pyruvate, du glycérol ou en dernier recours d'acides aminés. [5]
- ❖ La glycogénolyse : libère le glucose sous forme de glucose-1-phosphate par phosphorylations du glycogène. [6]
- ❖ La glycogénogénèse : permet le stockage de glucose dans le foie sous forme de glycogène. [7]

I.3. Transport du glucose

Il est transporté travers la membrane plasmique de toutes les cellules. Il existe deux types de transports :

I.3.1. Transport facilité

Ce transport est assuré par les transporteurs GLUT « glucose transporteur » qui forment un pore qui traverse la membrane plasmique (unipore). Il se fait par diffusion passive sans apport d'énergie. Il s'effectue dans le sens du gradient de concentration. [8] [9]

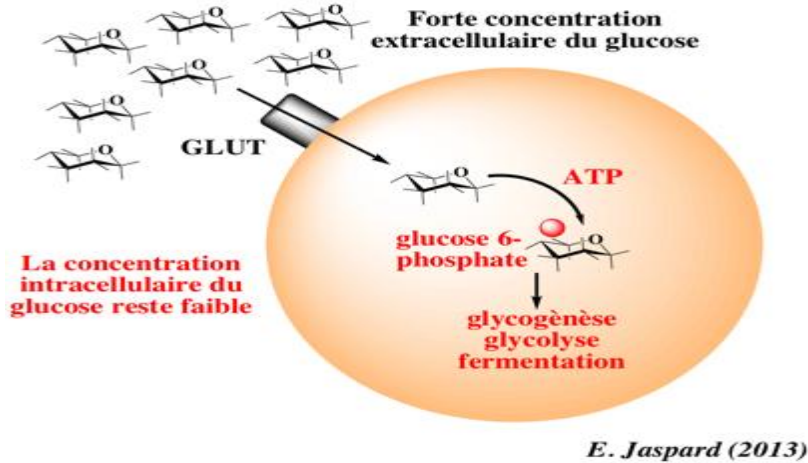


Figure 2 : Transport facilité. [10]

I.3.2. Transport actif secondaire

Il s'effectue via les Symports [Na^+ /glucose] ("Sodium/Glucose Co-Transporteur" - SGLT1 et SGLT2) [9]. Par exemple, pour le glucose, le cotransporteur Na – Glucose fait pénétrer le glucose dans la cellule contre son gradient de concentration en utilisant l'énergie fournie par le sodium qui se déplace selon son gradient électrochimique. [11]

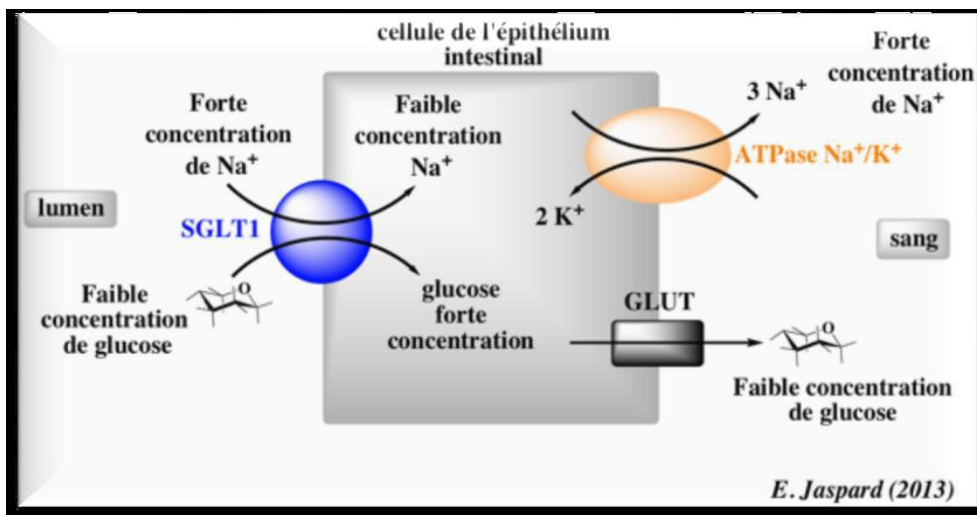


Figure 3: Transport actif secondaire. [10]

I.4. La glycémie et analyses médicales

La glycémie est la concentration du glucose dans le sang. Les trois états de la glycémie sont montrés sur le tableau 1.

Tableau I : les trois états de glycémies. [12]

Hypoglycémie	< à 0.60g/l
Glycémie normale	A jeun : 0.70g/l - 1.10g/l 1h30 après un repas : < 1.40g/l
Hyperglycémie à jeun	Supérieur à 1.10g/l

La glycémie varie en fonction de différents facteurs : la nutrition, l'état physiologique, et l'activité. Le taux de glucose dans le plasma sanguin est une valeur couramment mesurée lors d'un bilan sanguin. Il est régulé par divers mécanismes physiologiques, particulièrement l'insuline. Une glycémie élevée observée à jeun peut être le signe d'un état pré-diabétique ou d'un diabète sucré. À l'inverse, une glycémie trop faible est appelée hypoglycémie. [13]

Le diabète sucré est un trouble métabolique qui rend l'organisme incapable de réguler convenablement sa glycémie en raison d'un déficit d'insuline. La glycémie peut être mesurée à travers différentes méthodes, par exemple la glycémie à jeun (impaired fasting glucose en anglais) qui mesure le taux de glucose plasmatique après huit heures de jeûne, ou encore le test de tolérance au glucose (GTT) qui mesure la réaction de l'organisme après l'absorption de 75 g de glucose à la suite d'une période de jeûne à l'issue de laquelle la glycémie à jeun est mesurée [13].

Les techniques d'imagerie médicale permettent une appréciation de la topologie du métabolisme cellulaire en tirant partie du fait que le glucose est davantage consommé lorsque le métabolisme est actif. En tomographie par émission de positons, on utilise pour cela un composé dérivé du glucose, le fluorodésoxyglucose (^{18}F), ou ^{18}F -FDG qui, du point de vue structurel, est suffisamment proche du glucose pour être capté par les cellules mais inutilisable dans leur métabolisme. Ce composé étant radioactif, les rayonnements émis sont alors captés et, suivant leur répartition dans l'organisme, produisent une image d'hyperfixation dans les lieux de haut métabolisme tels que le cerveau, le cœur, ou encore les tumeurs. [14]

II. Le Calcium

Le calcium étroitement associé aux niveaux sanguins, osseux et l'homéostasie calcique et phosphorée est maintenue grâce aux entrées et aux sorties assurées par le rein et l'intestin, et grâce à une régulation par la parathormone (PTH), la calcitonine et les métabolites de la vitamine D3. [15]

Le rôle le plus évident du calcium est de constituer l'essentiel de la charge minérale osseuse. Cet élément joue sans aucun doute un rôle primordial au niveau cellulaire et

membranaire, car les organismes n'hésiteront pas à les extraire des os pour réguler leur taux sanguin. [16]

II.1. Métabolisme de calcium

II.1.1. Métabolisme du calcium

II.1.1.1. Besoin et apport

- ❖ Besoins : 800 – 1000mg/24h chez l'adulte. Augmentés au cours de la croissance, la grossesse, l'allaitement et la ménopause
- ❖ Apports :
 - Laitages +++.
 - Poissons.
 - Légumes, fruits secs. [17]

II.1.1.2. Absorption

Absorption intestinale : au niveau du duodénum (milieu acide). Deux mécanismes d'absorption possible :

- Mécanisme actif (Trans cellulaire) : hormono-dépendant (1,25-dihydroxy vitamine D3 (1-25 diOH D3).
- Mécanisme passif (paracellulaire) dépendant de l'apport (gradient de concentration). L'absorption est diminuée en présence d'oxalate (épinards, oseille) et des bases, elle est augmentée par le pH acide, par la vitamine D, la PTH ainsi que la GH. [18]

II.1.1.3. Elimination

- Intestinale intéresse le calcium non absorbé ou celui sécrété dans la lumière intestinale.
- Urinaire, qui est d'environ 2-7mmol/24H, se produit grâce à la filtration mais la majeure partie est réabsorbée au niveau proximal. Tandis que la réabsorption distale est sous control hormonal.
- L'élimination est favorisée par l'hypercalcémie, l'acidose, la calcitonine et le cortisol.

- La réabsorption est favorisée par l'hypocalcémie, la PTH, et la vitamine D. [19]

II.1.1.4. Répartition

- ❖ Os : 99% du calcium osseux est en continuel échange avec le plasma. Le renouvellement est de 18% par an par cellule. Quant au 1% restant, il se trouve dans le réticulum endoplasmique, les mitochondries, et calcium sanguin.
- ❖ 0,1% se trouve dans le sang où il est essentiellement plasmatique (très peu dans les GR).

La valeur habituelle normale est de 2,10 - 2,62 mmol/l = 84 -105 mg/l. [17]

II.1.1.5. Le calcium plasmatique existe sous deux formes :

- ❖ Calcium non diffusible (non ultra filtrable) 45%, liés aux protéines plasmatiques (albumine++++).
- ❖ Calcium diffusible ultra filtrable 55%, non liés aux protéines, il est représenté par : Calcium libre ionisé et Calcium complexé.

II.1.1.6. Rôles

- ❖ Fonctions mécaniques dans le squelette sous forme ionisée.
- ❖ Transmission de l'influx nerveux.
- ❖ Contraction musculaire.
- ❖ Participation à des réactions en chaînes telle que la coagulation.
- ❖ Activation enzymatique. [16]

II.2. Exploration du métabolisme calcium

II.2.1. Calcium

II.2.1.1. Le calcium total

Le calcium relaie de nombreuses actions hormonales en tant que second messager et sa présence est indispensable au fonctionnement de multiples transporteurs membranaires et enzymes [20]. Le calcium est très important dans la physiologie du tissu osseux. Son test sanguin est utilisé pour évaluer le métabolisme du calcium dans le corps [21]. Sa

distribution dans l'organisme est régulée par les hormones. Son exploration permet de diagnostiquer des troubles hormonaux, des maladies osseuses et des maladies rénales qui affectent l'équilibre ionique de l'organisme. [22]

Le calcium total est principalement dosé par des techniques colorimétriques à l'ortho-crésol-phtaléine, au bleu de méthyle thymol ou à l'arsenazo III (82% des laboratoires selon les annales du contrôle national de qualité n° 21), plus rarement par réflectométrie (12%), ou par électrode sélective après acidification (2%).

La spectrophotométrie d'émission ou d'absorption atomique sont devenue des techniques anecdotiques. [20]

Les normes varient selon l'âge, ainsi chez les enfants <3ans il est compris entre 2.2-2.7mmol/L 88-110mg/L ; les enfants> 3 ans et adulte : 2.2 - 2.6 mmol/L 90 - 105 mg/Lou g/dl. [22]

II.2.1.2. Le calcium ionisé

Le calcium ionisé est la partie biologiquement active du calcium. Elle peut être estimée par dosage direct, mesure du calcium total ou correction de ce dernier.

Le calcium corrigé fournit une indication pour évaluer le calcium ionisé.

La correction se fait en fonction du taux de protéines ou de l'albumine, selon les formules de Partit :

$$\text{Calcium corrigé} = \text{calcium total [mmol/l]} + [(40 - \text{albumine [g/l]})/40]$$

$$\text{Ou calcium total [mmol/l]} / [0,55 + (\text{protéine [g/l]} / 160)]$$

La valeur usuelle reste la valeur du calcium total : 2,20 à 2,60 mmol/l. [23]

Pour la détermination du calcium ionisé, le sang doit être prélevé dans un tube d'héparinate de Lithium le matin à jeun. L'échantillon peut provenir de veines, d'artères ou de capillaires, mais il doit être strictement anaérobie pour éviter une augmentation du pH due à la perte de carbone. Le dioxyde de carbone, le plasma et le sérum peuvent être conservés à température ambiante pendant 4 heures et à + 4° C pendant 24 heures. Il se conserve plusieurs mois à -18°C. [20]

La variation biologique du calcium ionisé est particulièrement étroite. Sauf pour les enfants, en particulier les nouveau-nés, la valeur observée ne varie pas selon le sexe ou l'âge. [24]

II.3. Calcium urinaire

Pour la calciurie, prélever de l'urine sans conservateur dans les 24 heures ou moins de 2 heures. Dans la plupart des pathologies, la calciurie en elle-même ne constitue pas un élément diagnostique. Cependant, c'est un point clé dans le diagnostic des calculs et de la maladie tubulaire rénale. Ensuite, des doses répétées de calcium urinaire permettent de suivre l'évolution de ces pathologies. Une seule dose de phosphate urinaire n'a pas de sens. La phosphaturie est très dépendante de l'apport alimentaire. Dans tous les cas, le dosage du phosphate urinaire ne constitue pas un élément de diagnostic. D'autre part, afin de déterminer la cause d'une excrétion anormale de phosphate, il peut être utile de déterminer le seuil de réabsorption du phosphate. [25]

II.4. Régulation

La régulation du calcium fait intervenir trois sites :

- Le tube digestif.
- L'os.
- Le rein.

Au niveau desquels peuvent intervenir trois hormones :

- La PTH.
- La calcitonine.
- La vitamine D. [17]

III. Phosphatase alcaline

III.1. Définition

PAL = phosphatases alcalines ainsi nommées car elles agissent en milieu alcalin.

Les phosphatases alcalines sont des enzymes qu'on retrouve principalement au niveau du foie et des os (pour 90 % d'entre elles) où elles contribuent à la minéralisation et à la fabrication du tissu osseux et cartilagineux. On les retrouve également, quoiqu'en plus petites quantités, dans l'intestin et les reins et plus globalement dans les globules blancs ce qui permet de facilement les doser dans le cadre d'une analyse de sang. Ainsi, une augmentation de ces substances peut refléter une pathologie hépatique ou osseuse, et même un cancer. C'est pourquoi il est recommandé d'analyser et évaluer le taux de phosphatases alcalines. [21]

Pour le métabolisme phosphocalcique, seule la fraction osseuse qui reflète l'activité ostéoblastique présente un intérêt.

III.2. Indications

- Exploration fonctionnelle du foie.
- Test de cholestase intra ou extra-hépatique hépatique : exploration de la fonction de dégradation-excrétion hépatique.
- Exploration du tissu osseux dont le taux des PAL reflète la croissance.

III.3. Conditions de prélèvement

- Sang veineux sans trace d'hémolyse.
- Plasma héparine ou sec.

III.4. Valeurs physiologiques

- Adulte : < 300 UI/l.
- Poulain : le taux peut aller jusqu'à 1000 UI/l car ce taux est le reflet de la croissance du tissu osseux.
- Jument gestante : pour les mêmes raisons, le taux peut être physiologiquement élevé.

III.5. Le rôle de la Pal

III.5.1. Augmentation ou diminution de la phosphatase alcaline

- Un taux élevé de phosphatase alcaline dans le sang peut être le signe d'une maladie du foie (en particulier des canaux biliaires) ou des os. Lors de la guérison d'une fracture osseuse, le taux de phosphatases alcalines est, par exemple, plus élevé.
- Les patients atteints d'hypophosphatasie souffrent d'hypophosphatasémie, hypo signifiant « pas assez ». Ils ont donc trop peu de phosphatases alcalines dans le sang. À ne pas confondre avec l'hypophosphatémie, qui est un manque de phosphate et qui peut être corrigée par un apport alimentaire approprié. [26]

III.5.2. Conséquences d'une carence en phosphatase alcaline

- Une quantité insuffisante des phosphatases alcalines en cas d'hypophosphatasie entraîne un manque en composés de phosphates. Dans les os, les phosphates se lient avec le calcium pour former du phosphate de calcium, un minéral essentiel, qui renforce l'os et fournit leur solidité. Ce processus est appelé minéralisation osseuse. En cas d'hypophosphatasie, cette minéralisation ne peut se faire correctement.
- Une autre conséquence de la carence en phosphatase alcaline est l'accumulation des composés de phosphates non dégradés dans le sang et dans l'urine, tel la phosphoéthanolamine, le phosphate de pyridoxal et le pyrophosphate.

Chapitre II

Méthodes de dosage

I. Dosage de la calcémie

I.1. Méthodes colorimétriques

Elles utilisent différentes substances qui complexent le calcium en formant un dérivé dont la coloration est proportionnelle à la concentration de calcium de l'échantillon à doser. Il est nécessaire d'éliminer l'interférence du magnésium en utilisant l'hydroxyquinoléine et en travaillant à pH alcalin.

Ces méthodes sont très adaptées aux équipements biochimiques, une adaptation multiparamétriques automatiques. [27]

I.1.1. Ortho crésolphtaléin

L'ortho crésolphtaléin complexone se complexe en milieu alcalin avec le calcium pour donner un dérivé rouge présentant un maximum d'absorption à 575 nm.

I.1.2. Bleu de méthyl thymol

Ce réactif chélate le calcium et vire au bleu avec un maximum d'absorption à 612 nm.

I.1.3. Arsenazo III

Le complexe coloré en noir présente un maximum d'absorption à 680 nm.

I.2. Méthodes physiques

I.2.1. Spectrophotométrie d'absorption atomique

C'est la méthode de référence actuelle pour le dosage du calcium. La longueur d'onde utilisée est de 422,7 nm et la technique demande le rajout de chlorure de lanthane pour éviter l'interférence des phosphates.

Ce dosage s'effectue sur un appareillage onéreux, et peu de laboratoires de biochimie de routine l'utilisent.

Le schéma de principe d'un spectrophotomètre d'absorption atomique est présenté sur la figure 4. Un faisceau lumineux spécifique émis par la lampe à cathode creuse est absorbé par les atomes de calcium de l'échantillon qui ont été amenés sur son trajet par le générateur de vapeur atomique. Il existe un rapport entre le nombre d'atomes ayant absorbé et l'intensité du faisceau après le générateur. Le monochromateur sélectionne la longueur d'onde du dosage (ici 422,7 nm). Le modulateur permet d'éliminer certaines émissions parasites indésirables. Le photomultiplicateur et l'électronique associée permettent, après calibration la conversion des résultats en concentration. [27]

I.2.2. PhotoSmétrie à émission de flamme

Les appareils qui permettent à cette méthode de mesurer le sodium, le potassium et le lithium utilisent des flammes propane/air dans la plupart des cas, dont la température n'est pas assez élevée pour exciter les atomes de calcium.

Dans ces conditions il est nécessaire, si l'on veut doser le calcium par cette technique, d'acquérir un photomètre de flamme utilisant le mélange acétylène/air. Ces appareils donnent de bons résultats mais sont plus chers et moins courants sur le marché.

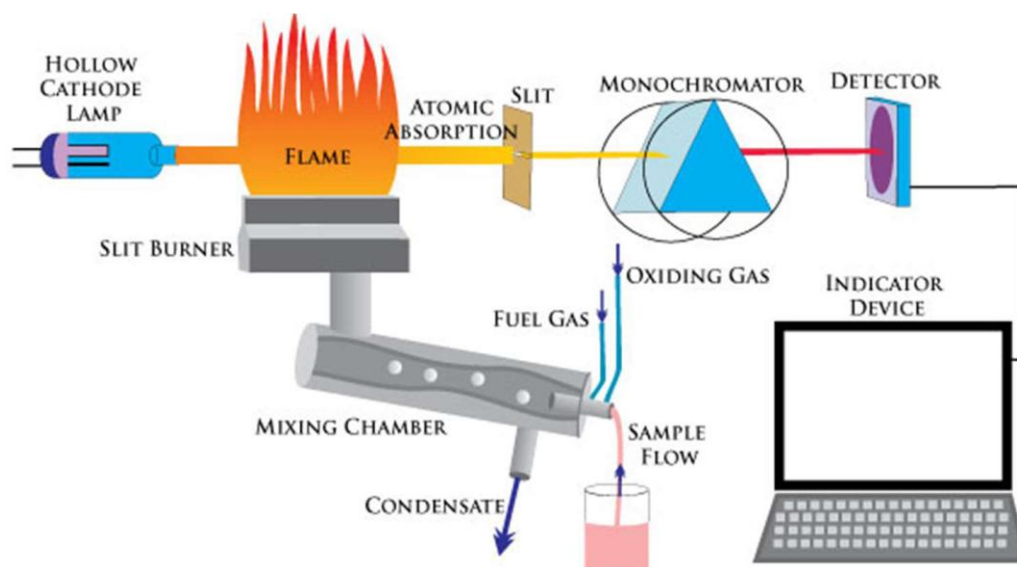


Figure 4 : Schéma de principe d'un spectrophotomètre d'absorption atomique.

I.2.2.1. Méthodes potentiométriques

Après acidification destinée à déplacer le calcium de sa liaison aux protéines et de ses complexes, le calcium total peut être mesuré par potentiométrie en utilisant une électrode sélective. Cette technique a été adaptée à certains analyseurs automatiques.

I.2.2.2. Dosage du calcium ionisé

Ce dosage a été développé ces dernières années et cette technique par électrode sélective est maintenant intégrée à des instruments dont l'utilisation est à la portée de tous les laboratoires dans des conditions de fiabilité et de praticabilité satisfaisante.

II. Dosage de la glycémie

Les méthodes enzymatiques représentent 99 % des techniques utilisées. 80 % utilisent le glucose oxydase, 7 % l'hexokinase. Parmi les principes méthodologiques les plus utilisés, nous mentionnerons celui utilisant le réactif de Trinder et une technique mettant en jeu une électrode. [27]

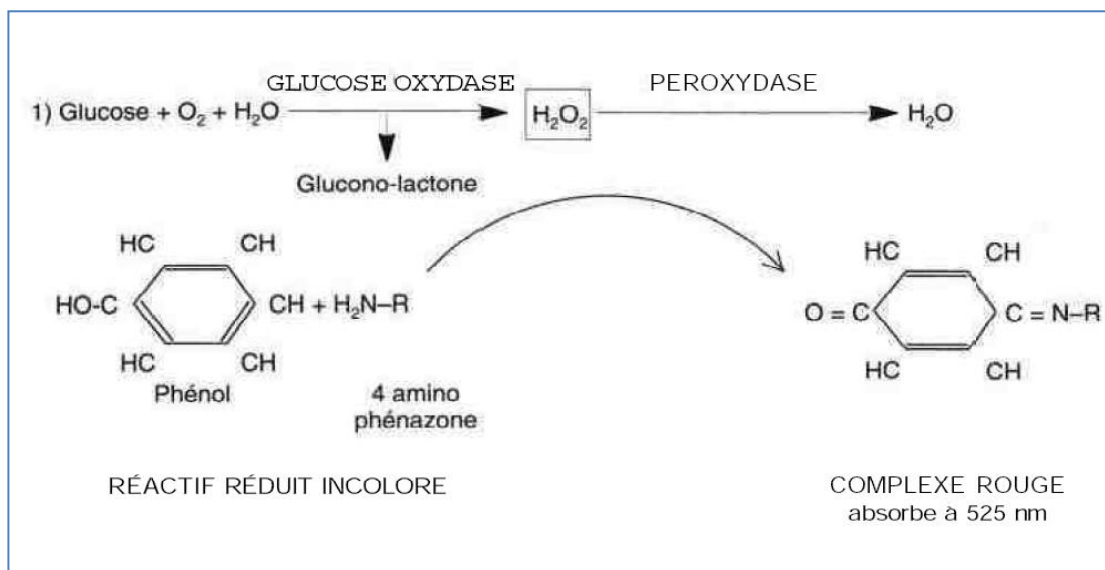


Figure 5 : Schéma réactionnel par la méthode de Trinder.

À l'aide d'un spectrophotomètre, l'intensité de la réaction colorée (absorbance) est mesurée à 525 nm.

Cette méthode peut aussi être réalisée à l'aide de bandelettes réactives (ressemblant à celles utilisées pour les urines) dont l'extrémité, imprégnée de réactifs, reçoit une goutte de sang. Le changement de coloration est apprécié soit visuellement à l'aide d'une échelle colorée soit par un lecteur portable indépendant et elle permet d'estimer la valeur de la glycémie.

Le prélèvement au bout du doigt peut facilement effectuer cet « autocontrôle glycémique » ce qui est très important actuellement pour l'équilibrage de la glycémie des diabétiques, en particulier ceux porteurs d'une pompe à insuline, implantée ou non.

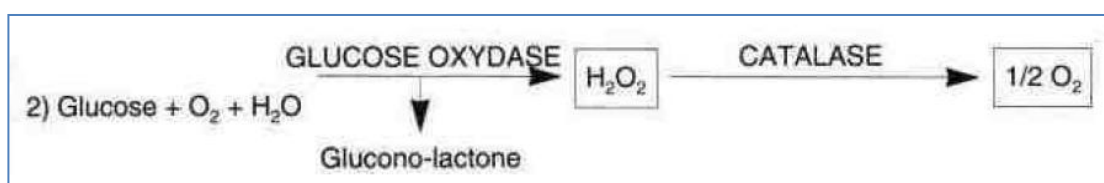


Figure 6 : Schéma réactionnel avec mesure de la production d'oxygène.

La vitesse d'apparition de l'oxygène est estimée par polarographie à l'aide d'une électrode sélective.

D'autres méthodes mettent en jeu des réactifs à base de co-enzymes nicotiniques comme indicateurs.

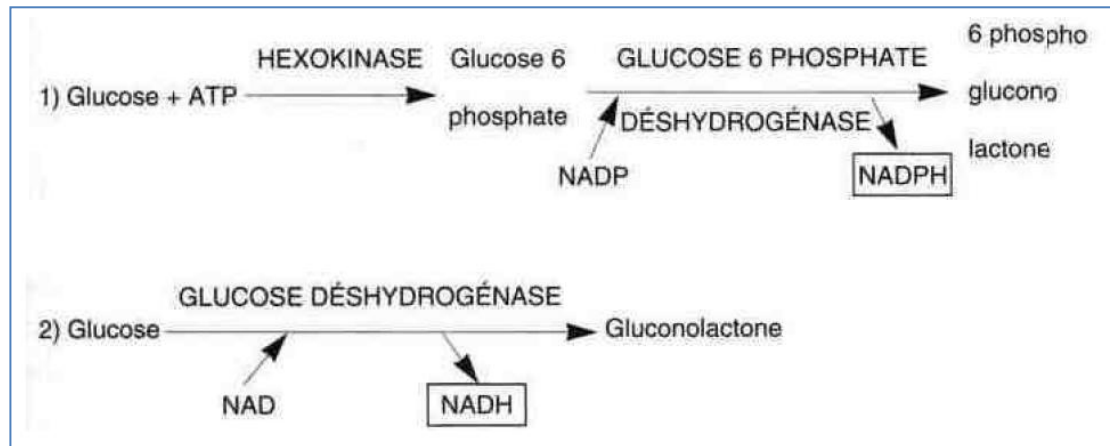


Figure 7 : Schéma réactionnel avec lecture à 340 nm.

III. Dosage de la PAL

III.1. Principe général de la mesure d'une activité enzymatique

Afin de déterminer l'activité enzymatique de l'enzyme, la réaction catalysée par l'enzyme est utilisée et la quantité de produit formé ou la quantité de substrat détruit en un temps déterminé est mesurée.

Nous pouvons pour cela utiliser des méthodes colorimétriques en point final comme c'est le cas dans la méthode Bodansky ou bien utiliser la cinétique d'apparition du produit comme dans la méthode de Bessey Lowry. Enfin et bien souvent, on essaie d'introduire un coenzyme nicotinique, soit dans une réaction directe, comme c'est le cas pour la détermination de la lactico-déshydrogénase (LDH), soit en utilisant une cascade de réactions afin de terminer par une réaction utilisant le couple $\text{NAD}^+/\text{NADH.H}^+$ ce qui est le cas de la détermination de l'aspartate amino-transférase (ASAT), ou le couple $\text{NADP}^+/\text{NADPH.H}^+$ pour la détermination de l'activité catalytique de la créatine kinase (CK). [27]

III.2. Les différentes méthodes de dosage

III.2.1. Méthode calorimétrique en point final

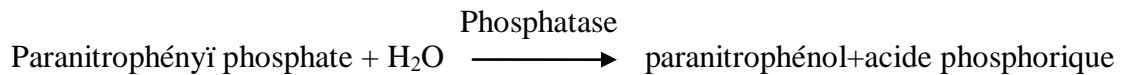
III.2.1.1. Phosphatases alcalines déterminées par la méthode de Bodansky

Les phosphatases alcalines agissent sur le 3-glycérophosphate pour le transformer en glycérol et acide phosphorique. Le dosage en point final des phosphates produit une coloration proportionnelle à la quantité de phosphatases alcalines dans le sérum.

III.2.2. Méthode calorimétrique en cinétique

III.2.2.1. Phosphatases alcalines déterminées par la méthode de Bessey Lowry

Cette méthode peut être réalisée aussi bien en point final qu'en cinétique. Elle utilise la réaction suivante, en milieu alcalin :

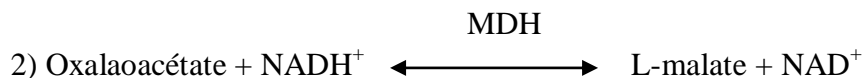


La vitesse de formation du paranitrophénol est proportionnelle à la quantité d'enzyme dans le sérum.

1.1. Détermination de l'activité aspartate 2 oxoglutarate aminotransférase

TGO ou ASAT (aspartate aminotransférase) selon les recommandations de la SFBC

Les deux réactions suivantes sont couplées :



MDH = Malate déshydrogénase. α -cétoglutarate = acide 2-oxoglutarique

On distingue deux temps :

- Chauffer le réactif et éliminer les réactions secondaires (l'acide oxaloacétique présent dans l'échantillon est ici consommé).
- Après avoir atteint l'équilibre entre les deux réactions, démarrer la réaction en ajoutant 2 acides oxoglutariques et mesurer le taux de diminution de l'absorbance à 340 nm (cinétique de diminution). La méthode cinétique utilisant les couples NAD⁺, NADH, H⁺ est aujourd'hui largement utilisée en chimie clinique pour déterminer l'activité enzymatique. [27]

Chapitre III

Généralité sur les tests exploités

I. Les tests non paramétriques

La quasi-totalité des tests que l'on a utilisés jusqu'à présent supposent que la loi de la variable aléatoire X étudiée est normale dans les populations considérées (hormis pour la conformité ou la comparaison de moyennes sur de grands échantillons). Cette condition n'étant pas toujours satisfaite, on étudie maintenant des tests qui sont valables même quand la loi de X n'est pas normale. Ce sont des tests de comparaison de moyennes. Lorsque les échantillons peuvent être considérés indépendants, on applique le test de Mann et Whitney pour 2 échantillons, celui de Kruskal et Wallis pour un nombre quelconque d'échantillons. Lorsqu'on a deux échantillons appariés, on applique le test de Wilcoxon. Tous ces tests sont dits non paramétriques car ils ne nécessitent pas d'estimation de la moyenne et de la variance. En fait, ils n'utilisent même pas les valeurs x_i recueillies dans les échantillons, mais seulement leur rang dans la liste ordonnée de toutes les valeurs. [28]

II. Les tests paramétriques

Un test est dit paramétrique si son objet est de tester une hypothèse relative à 1 ou plusieurs paramètres d'une variable aléatoire qui suit la loi normale ou ayant un effectif important ($n > 30$).

II.1. Le test de Student

C'est l'un des tests de paramètres qui permet de comparer :

- La moyenne de l'échantillon a une valeur.
- Donner la moyenne de deux échantillons indépendants.
- La moyenne des deux échantillons appariés.

L'utilisation de ce test est généralement encore limitée par deux conditions d'application importantes, à savoir la normalité et le caractère aléatoire et la simplicité de l'échantillon. Cependant, lorsque l'échantillon est de taille suffisante (n supérieur à 30) pour assurer la quasi-normalité de la distribution d'échantillonnage moyenne, la première condition n'est pas nécessaire. De plus, dans ces deux conditions, nous devons supposer

que dans certains tests liés à la moyenne, les variances des échantillons considérés sont égales. [29]

II.1.1. Cas d'un seul échantillon

Le test de Student cas d'un seul échantillon est aussi appelé test de conformité, ce test a pour but de vérifier si notre échantillon provient d'une population avec la moyenne spécifiée, μ_0 , ou s'il y a une différence significative entre la moyenne de l'échantillon et la moyenne présumée de la population.

Les valeurs critiques pour différents degrés de liberté et différents seuils de signification sont données par la table de Student. Pour un test unilatéral, nous prendrons la valeur $t_{n-1,1-\alpha}$ de la table et pour un test bilatéral, nous prendrons $t_{n-1,1-\alpha/2}$.

II.1.2. Cas de deux échantillons indépendants

Etant donné deux échantillons de taille n_1 et n_2 , on admet qu'ils ont été prélevés d'une même population relativement à la variable étudiée, ces deux échantillons ayant été prélevés indépendamment l'un de l'autre ?

Les hypothèses à tester sont :

- Hypothèse nulle :
 - $H_0 : \mu_1 = \mu_2$
- Hypothèse alternative qui prend trois formes :
 - $H_1 : \mu_1 > \mu_2$ (test unilatéral à droite)
 - $H_1 : \mu_1 < \mu_2$ (test unilatéral à gauche)
 - $H_1 : \mu_1 \neq \mu_2$ (test bilatéral)

II.1.3. Cas de deux moyennes pour deux échantillons appariés

II.1.3.1. Contexte

Il s'agit d'un test portant sur deux échantillons appariés de deux variables X et Y représentant le même caractère quantitatif continu, soit issus d'une même population **P**, et dans ce cas les mesures de X et de Y sont faites sur les mêmes individus, soit issus d'une population **P** composée de paires d'individus (2 individus) aussi semblables que possible. [30]

II.1.3.2. Principe pour des échantillons appariés

On travaille sur la variable "différence" notée $D = X - Y$ (ou $Y - X$).

II.1.3.3. Hypothèses de test et risque

Les hypothèses se traduisent sur la moyenne de la variable D notée μ en remarquant que $\mu = \mu_X - \mu_Y$ (ou $\mu_Y - \mu_X$).

L'hypothèse nulle

$$H_0 : \mu_X = \mu_Y \text{ s'écrit } H_0 : \mu = 0$$

L'alternative bilatérale

$$H_1 : \mu_X \neq \mu_Y \text{ s'écrit } H_1 : \mu \neq 0$$

Ou les alternatives unilatérales

$$H_1 : \mu_X > \mu_Y \text{ devient } H_1 : \mu > 0$$

unilatérale droite, unilatérale gauche. $H_1 : \mu_X < \mu_Y$ $H_1 : \mu < 0$

On est donc ramené à un test de comparaison d'une moyenne (de la différence) à la valeur théorique (de référence) 0.

II.1.3.4. Observations

On dispose de 2 échantillons appariés de même taille n . On note :

E1 l'échantillon de taille n et (x_1, \dots, x_n) les mesures de X ,

E2 l'échantillon de taille n et (y_1, \dots, y_n) les mesures de Y .

On calcule la variable différence pour chaque paire $d_i = x_i - y_i$ (ou $y_i - x_i$) :

On dispose d'un échantillon de taille n de D dont les mesures sont notées (d_i) .

Les différences sont résumées par les valeurs observées des moyenne, écart-type et écart-type sans biais empiriques de D notées : moyenne, écart-type s_d et écart-type sans biais.

II.1.3.5. Statistiques de test et lois sous H_0

Les statistiques utilisées sont celles du test de comparaison d'une moyenne à une valeur théorique μ_0 , pour $\mu_0 = 0$.

- **Petites tailles d'échantillon ($n < 30$)**

Sous la condition que la variable "différence" suit une loi normale, la statistique de test de Student T suit sous H_0 une loi de Student à $(n - 1)$ dl, notée T_{n-1} .

- **Grandes tailles d'échantillon ($n \geq 30$)**

Sous la condition $n \geq 30$, la statistique de test $Z = \frac{\bar{d} - \mu_0}{s_d/\sqrt{n}}$ suit approximativement sous H_0 une loi normale $N(0, 1)$.

Partie B : Etude expérimentale



Matériel

Et

Méthodes

I. Présentation de l'organisme d'accueil

I.1. Description du CHU de Tizi-Ouzou Unité Belloua

Unité Belloua est une structure sanitaire, sise près des villages de Sidi Belloua et Redjaouna, qui dépend du centre hospitalo-universitaire de Tizi Ouzou dans la Grande Kabylie en Algérie, et qui relève de la Direction de la Santé et de la Population de la wilaya de Tizi Ouzou, autant que L'hôpital Nadir Mohamed.

I.2. Localisation et coordonnées L'hôpital Sidi Belloua

Se situe au nord de la ville de Tizi Ouzou. Ses coordonnées sont :
36°43'37''nord4°03'58''sud

I.3. Construction

L'hôpital Sidi Belloua est un ancien sanatorium construit au début des années 1950 sur les hauteurs nord de la ville de Tizi Ouzou et sur le flanc sud du mont de Tizi Ouzou.

I.4. Organisation de l'hôpital Sidi belloua

L'établissement hospitalier public Belloua offrant des prises en charge dans plusieurs spécialités médico-chirurgicales, il comprend les départements suivants :

- ; Laboratoire central.
- ; Service radiologie.
- ; Pharmacie centrale.
- ; Service ophtalmologie.
- ; Service ORL.
- ; Service oncologie.
- ; Service dermatologie.
- ; Service gynécologie.
- ; Service rhumatologie.
- ; Service rééducation fonctionnelle.
- ; Service endocrinologie diabétologie.

; Service chirurgie thoracique.

; Service réanimation polyvalente.

; Service pneumo physiologie.

I.5. Période et type d'étude

Il s'agit d'une étude comparative du dosage de la glycémie, les Phosphatases alcalines et le calcium par deux automates différents « Dimension et Horiba » Nous avons effectué une série de 90 échantillons de malades. Pour chaque paramètre une série de 30 échantillons pour prouver l'existence d'une concordance ou discordance entre les résultats donnés par ces deux machines. Durant la période allant du 17 Octobre 2021 au 24 Novembre 2021.

II. Matériels

II.1. Pentra C400-Horiba

ABX PentraC400 est un analyseur de banc de chimie clinique extrêmement compact. Sa grande autonomie avec chargement continu permet une productivité accrue dans un environnement convivial.



Figure 8 : picture of The ABX Pentra 400.

II.1.1. Mode opératoire de l'automate ABX PENTRA C400

II.1.1.1. Principe

Spectrophotométrie UV-visible en fonction de la longueur d'onde. C'est une technique basée sur la mesure de l'absorbance selon la loi de B er et Lambert :

$$A = \log [(I_0 - I) / (I - I_n)]$$

Où : A = absorbance.

I = l'intensité mesur e.

- ❖ I_0 = l'intensité de référence. L'intensité de référence est mesur e pour chaque longueur d'onde pendant l'initialisation de l'appareil ; elle correspond à l'intensité de la lampe mesur e à travers une cuvette remplie d'eau.
- ❖ I_n = l'intensité dans le noir. L'intensité dans le noir est mesur e pour chaque longueur d'onde pendant l'initialisation de l'appareil ; elle correspond à l'intensité résiduelle mesur e dans le noir (la lampe est masqu e). [34]

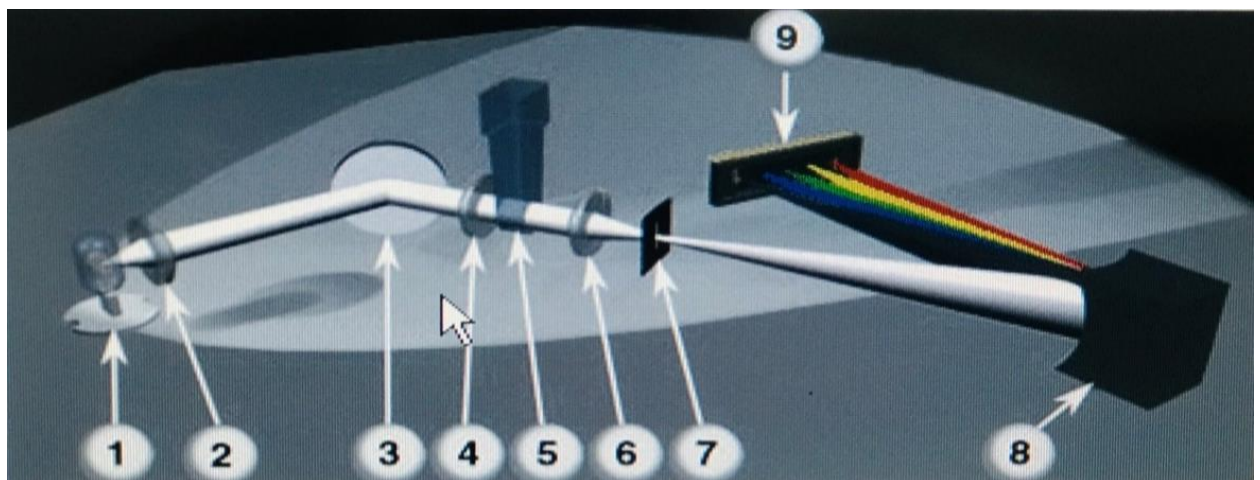


Figure 9 : Principe du spectrophotomètre de l'ABX PENTRA C400.

- | | | | |
|-----|--------------------------|-----|---------------------------------|
| 1 : | Lampe tungstène-halogène | 6 : | Lentille de couplage |
| 2 : | Lentille de condensation | 7 : | Fente d'entrée du spectrographe |
| 3 : | Miroir escamotable | 8 : | Réseau par réflexion concave |
| 4 : | Lentille de collimation | 9 : | Barrette de photodiode |
| 5 : | cuvette | | |

II.1.2. Réalisation de l'analyse sur ABX PENTRA C400

- L'analyse des échantillons est effectuée directement après leurs traitements.
- Après avoir appuyé sur l'interrupteur "Power On", la machine s'allume lançant automatiquement une initialisation de l'appareil,
- Après nous effectuons les tests d'auto contrôle mécanique, la calibration puis nous passons les contrôles (Normal et Pathologie),
- Cliquer sur l'icône « liste de travail » puis sur + ; une fenêtre avec les renseignements à fournir sur le patient, son échantillon et ses analyses s'affiche :
- Saisir les renseignements nécessaires dans les cadrans correspondant sans oublier de cliquer sur le bouton position pour avoir le numéro du portoir et la position sur le portoir de l'échantillon,
- Sélectionner ensuite les différents tests et valider,
- Placer les tubes des échantillons à analyser tout en les débouchant sur les portoirs correspondants,
- Placer ensuite les portoirs dans la chambre d'échantillon (dans la machine),
- Enfin cliquer sur l'icône Démarrer pour réaliser les analyses. [33]

II.2. Dimension RxL max

Automate de chimie de routine complète sur un système unique, compact et facile à utiliser. Ce système pouvait contenir jusqu'à 400 tests par heure. [34]



Figure 10: Automate SIEMENS Dimension RxL Max®. [35]

II.3. Autres matériels

Tableau II : Autres matériels utilisés.

Matériel consommable	Matériel non consommable
Tubes	P pipete
Les embouts	Ordinateur
Cuvette	Logiciel informatique
Gant	Centrifugeuse
Les réactifs	

Tableau III : Les réactifs.

Les Automates	Les Parametres Biochimiques	Réactif 1		Réactif 2	
		Composants	Concentration	Composants	Concentration
Horiba pentra abx 400 c	Gluc	Tampon; Pipes ph 7,6 NAD ATP Azoture de sodium	100 mmol/l 3,8 mmol 2,2 mmol < 0,1%	Hekokinase G-6-PDH Sulfate de magnésium Azoture de sodium	≥8500 U/l ≥8500 U/l 20mmol/l < 0,1 %
		Pal	2-amino-2-méthyl-1-propanol Sulfate de magnésium Sulfate de zinc	10,4-440 mmol/l 2 mmol/l 6,15 mmol/l	HEDTA Azoture de sodium
	Ca ²⁺				
Siemens Dimension Rxl	Les Parametres Biochimiques	Réactif 1		Réactif 2	
	Gluc	Composants	Concentration	composants	Concentration
		HK G-6-PDH NAD ATP Mg ²⁺ Stabilisant Tampon	15 U/ml 30 U/ml 8 mmol/L 15 mmol/L 7.4 mmol/L		
Pal	2-amino-2-méthyl-1-propanol Acétate de magnésium Sulfate de zinc HEDTA	3 M 8 mmol/L 4 mmol/L 8 mmol/L	Tampon p-NPP	101,6 mmol/L	

	Ca ²⁺	Tampon de glycine	0,22 mmol/L	OCPC 8-quinolinol	0,39 mmol/L 6,6 mmol/L
--	------------------	-------------------	-------------	----------------------	---------------------------

III. Méthodes analytiques de dosage de la glycémie, phosphatase alcaline et le calcium sur Horiba Pentra Abx 400 et Siemens Dimension Rxl.

III.1. Les techniques du dosage des différents paramètres sur siemens dimension rxl max

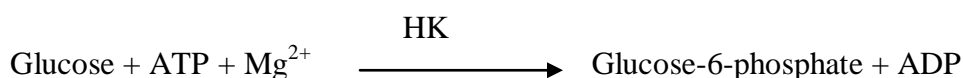
III.1.1. La technique de dosage de la glycémie

III.1.1.1. Dosage de la glycémie

La méthode glucose utilisée sur le système de chimie clinique dimension® est un test de diagnostic *in vitro* conçu pour la détermination quantitative du glucose dans LCR, le sérum, le plasma et l'urine humain.

III.1.1.2. Principe

L'hexokinase catalyse la phosphorylation du glucose en présence de l'ATP et de Mg²⁺ pour former du glucose-6-phosphate (G-6-P) et de l'adénosine diphosphate (ADP). Le G-6-P est ensuite oxydé par la glucose-6-phosphate déshydrogénase (G-6-PDH) en présence de NAD pour produire 6-phosphogluconate et du NADH. Une mole de NAD est réduite en une mole de NADH pour chaque mole de glucose présente. L'absorbance due au NADH est déterminée grâce à une technique bi chromatique en point final (340 et 383 nm).



❖ Condition du test

- Volume d'échantillon 5µl.
- Volume de réactif1 145µl.
- Volume de réactif2 33µl.
- Volume de diluant 258µl.
- Température 37°C.
- Longueur d'onde 577 et 540 nm.

- Type de mesure bi chromatique en point final.

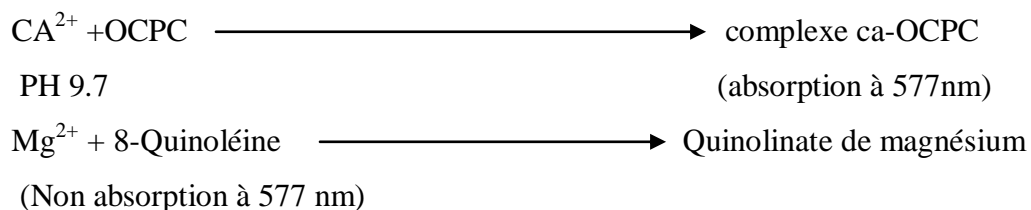
III.1.2. La technique de dosage du calcium

III.1.2.1. Dosage de calcium

La méthode CA utilisée sur le système de chimie clinique dimension® RXL est test de diagnostic *in vitro* conçu pour la détermination quantitative du calcium dans l'urine, le sérum et le plasma humains.

III.1.2.2. Principe

Le calcium réagit avec l'OCPC pour former un complexe violet. La qualité de complexe ainsi formé est proportionnelle à la concentration de calcium et se mesure grâce à une technique bi chromatique (577, 540 nm) en point final. Les ions de magnésium, qui forment également un complexe coloré avec l'OCPC, sont retirés de la réaction par complication avec le 8-quinolinol.



❖ Condition du test

- Volume d'échantillon 5µl.
- Volume de réactif1 145µl.
- Volume de réactif2 33µl.
- Volume de diluant 258µl.
- Température 37°C.
- Longueur d'onde 577 et 540 nm.
- Type de mesure bi chromatique en point final.

❖ **Etapes du dosage**

L'échantillonnage, la distribution des réactifs, le mélange, le traitement et l'impression des résultats sont automatiquement réalisés par le système dimension.

Le conteneur d'échantillon doit contenir une quantité suffisante pour prendre en charge le volume d'échantillon plus le volume mort. Il n'est pas nécessaire de remplir le conteneur (avec précision).

· Domaine de mesure analytique : 5.0 – 15 mg/dl (1.25 – 3.75 mmol/l).

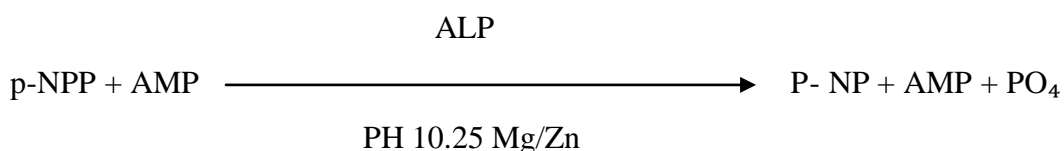
III.1.3. La technique de dosage de la phosphatase alcaline

III.1.3.1. Les phosphatases alcalines

La méthode ALPI est un test de diagnostic in vitro pour la mesure quantitative de la phosphatase alcaline dans le sérum et le plasma humain sur l'analyseur de chimie clinique Dimension®. Les mesures de la phosphatase alcaline et de ses iso enzymes sont utilisées dans le diagnostic et le traitement des maladies du foie, des os, de la parathyroïde et des intestins... Le diagnostic clinique doit être réalisé en tenant compte de toutes les données cliniques et de laboratoire.

III.1.3.2. Principe

La phosphatase alcaline catalyse la transphosphorylation du p-nitrophénylphosphate (p-NPP) en p-nitrophénol (p-NP) en présence du tampon de transphosphorylation, les 2 amino-2-méthyl-1-propanol (AMP). la réaction est augmentée par l'utilisation d'ions magnésium et zinc. La modification de l'absorbance à 405 nm due à la formation de p-NP est directement proportionnelle à l'activité ALP puisque les autres réactifs sont présents en quantités qui ne se limitent pas la vitesse et elle se mesure grâce à une technique cinétique bi chromatique (405, 510 nm).



❖ **Condition du test**

- Volume d'échantillon 7 µl.
- Volume de réactif1 90 µl.
- Volume de réactif2 57 µl.
- Volume de diluant 206 µl.
- Temps de réaction 7.2 minutes.
- Température 37°C.
- Longueur d'onde 405 et 510 nm.
- Type de mesure cinétique bi chromatique en point final.

❖ **Etapes de dosage**

L'échantillonnage, la distribution des réactifs, le mélange, le traitement et l'impression des résultats sont automatiquement réalisés par le système dimension®.

Le conteneur d'échantillon doit contenir une quantité suffisante pour prendre en charge le volume d'échantillon plus le volume mort. Il n'est pas nécessaire de remplir le conteneur (avec précision).

Les résultats de ce test doivent toujours être interprétés en rapport avec les antécédents médicaux du patient, les signes cliniques et autre constatation.

III.2. Les techniques du dosage de différents paramètres sur Horiba pentra abx C400

III.2.1. Techniques de dosage du glucose

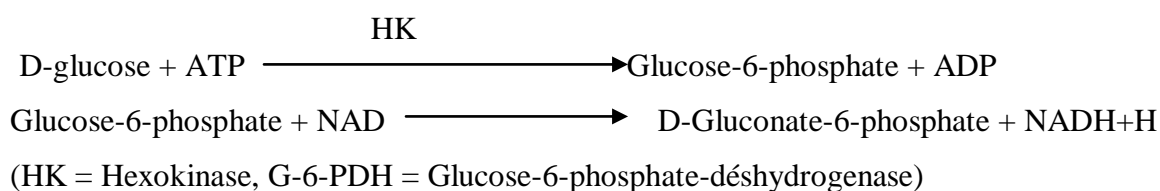
1-dosage du glucose :

La méthode glucose utilisée sur le système de chimie clinique Horiba pentra abx C400 est test de diagnostic *in vitro* conçu pour la détermination quantitative du glucose dans l'urine, le sérum et le plasma humains.

III.2.2. Principe

III.2.2.1. Méthode enzymatique (hexokinase)

Détermination du glucose selon les réactions suivantes :



III.2.3. Echantillon

- Sérum non hémolysé.
- Plasma recueilli sur héparine

III.2.4. Valeurs normales

- 0,74 - 1,06 g/l
- 74 - 106 mg/dl
- 4,1 - 5,90 mmol/l [36]

III.2.5. Volume de l'échantillon

2 µl/test

III.2.6. Limite de détection

La limite de détection, déterminée en suivant les recommandations du protocole Valtec (6) est de 0,11 mmol/l.

III.3. La technique de dosage du calcium

III.3.1. Dosage de calcium

La méthode CA utilisée sur le système de chimie clinique Horiba pentra abx 400 est test de diagnostic *in vitro* conçu pour la détermination quantitative du calcium dans l'urine, le sérum et le plasma humains.

III.3.2. Principe

Plusieurs méthodes colorimétriques ont été utilisées pour le dosage du calcium par le passé. Connerty et Briggs ont décrit des méthodes utilisant l'alizarine sulfonate 3 et la crésolphthaléin complexone alors que Gindler et King ont décrit une méthode utilisant le bleu de thymol. Ces méthodes ont ultérieurement été modifiées plusieurs fois. La méthode utilisée ici est basée sur le chromogène métallique Arsenazo III. Les ions calcium (Ca^{2+}) réagissent avec l'Arsenazo III (acide 2,2'-[1,8-dihydroxy-3,6-disulfonaphtylène-2,7-bisazo] bisbenzène arsonique) à pH 6,75 pour former un chromophore de couleur violette intense. L'absorbance du complexe Ca-Arsenazo III est mesurée de façon bi chromatique à 660/700 nm. L'augmentation de l'absorbance du mélange réactionnel obtenue est directement proportionnelle à la concentration en calcium dans l'échantillon. L'Arsenazo III a une affinité élevée ($K^{\circ} = 1 \times 10^{-7}$) pour les

ions calcium et ne présente aucune interférence avec les autres cations normalement présents dans le sérum, le plasma ou l'urine. [37] [38] [39] [40]

PH 6,50

$\text{Ca}^{2+} + \text{Arsenazo III} \longleftrightarrow \text{Complexe Ca-Arsenazo III (violet)}$

La fréquence des contrôles et les intervalles de confiance doivent être adaptés aux exigences du laboratoire et aux directives spécifiques de votre pays. Pour tester des matériels de contrôle de qualité, vous devez suivre les directives fédérales, nationales et locales. Les résultats doivent être situés entre les limites de confiance définies. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

III.3.3. Échantillon

- Sérum.
- Plasma recueilli sur héparine de lithium.
- Urine.

Ne pas utiliser de plasma recueilli sur EDTA :

L'anticoagulant EDTA n'est pas adapté pour l'analyse parce que ce composé chélate le calcium, le rendant indisponible pour la réaction avec le réactif. Les anticoagulants ne figurant pas dans cette liste n'ont pas été testés par HORIBA Médical. Par conséquent, leur utilisation avec ce dosage n'est pas recommandée. Les échantillons d'urine de 24 heures doivent être recueillis avec HCl 6N. Les urines non acidifiées qui ont été réfrigérées doivent être acidifiées et/ou chauffées à 56°C pendant 15 minutes pour redissoudre tout précipité. [41]

III.3.4. Stabilité du réactif embarqué

Une fois ouverte, la cassette de réactif placée dans le compartiment réfrigéré de l'analyseur ABX Pentra 400 est stable pendant 70 jours.

III.3.5. Volume d'échantillon

Le volume est de 5 µL/test.

III.3.6. Limite de détection

La limite de détection, déterminée en suivant les Recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP17-A est égale à 0,07 mmol/L (0,28 mg/dl).

III.3.7. Limite de détermination quantitative

La limite de détermination quantitative, déterminée en suivant les recommandations du protocole CLSI (NCCLS), EP17-A (11) est égale à 0,37 mmol/L (1,54 mg/dl).

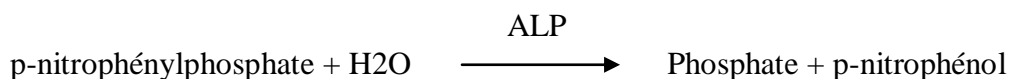
III.4. Technique de dosage l'ALP

III.4.1. Dosage de l'ALP

La méthode la PAL utilisée sur le système de chimie clinique Horiba pentra abx 400 c est test de diagnostic *in vitro* conçu pour la détermination quantitative du la phosphatase alcaline dans l'urine, le sérum et le plasma humains.

III.4.2. Principe

Test photométrique cinétique, conformément à l'International Federation of Clinical Chemistry (IFCC).



III.4.3. Utilisation

Transférer le volume requis de Réactif 1 dans un conteneur de 15, 10 ou 4 ml.

Transférer le volume requis de Réactif dans un conteneur de 10 ou 4 ml.

III.4.4. Échantillon

- Sérum.
- Plasma recueilli sur héparine.
- Perte d'activité dans les 2 à 3 jours à 15 - 25°C < 10 %.

III.4.5. Valeurs normales

III.4.5.1. Adulte

- a) Femme 35 - 104 [U/l]
- b) Homme 40 - 129 [U/l] [42]

III.4.5.2. Enfant

Tableau IV : Les valeurs normal de la Pal chez les enfants. [43]

Age	Valeur Normal
1 jour	< 250 [U/l]
2 à 5 jours	< 231 [U/l]
6 jours à 6 mois	< 449 [U/l]
7 mois à 1 an	< 462 [U/l]
1 à 3 ans	< 281 [U/l]
4 à 6 ans	< 269 [U/l]
7 à 12 ans	< 300 [U/l]
13 à 17 ans (fille)	< 187 [U/l]
13 à 17 ans (garçon)	< 390 [U/l]

III.4.6. Volume de nécessaire de l'échantillon

4 µl/test.

III.4.7. Limite de détection

La limite de détection, déterminée en suivant les recommandations du protocole Valtec est de à 6 U/l.

IV. Méthode d'étude

IV.1. Echantillonnage

On a travaillé sur 30 échantillons des patients externes et hospitalisés parvenus des différents services de l'unité Belloua CHU Nedir Mohamed, qui nous permettent de balayer un grand intervalle de valeurs (faibles, normales et élevées), point essentiel pour la standardisation de notre étude.

IV.2. Dosage

➤ **Etape 01 : Maintenance journalière**

On réalise la maintenance journalière chaque matin au début de la journée. Ceci consiste :

- Au renouvellement des seringues, des solutions de lavage et des réactifs déjà consommés.
- A la vérification de la pompe à déchets.
- A la vérification de la pureté de l'eau désionisée.
- La vérification des composants ICT.
- Le nettoyage des agitateurs, des aiguilles et des cuvettes.

Il existe aussi, des maintenances hebdomadaires et mensuelles spécifiques de chaque appareil.

➤ **Etape 02 : Calibration**

Avant qu'on ait entamé notre analyse, on calibre les paramètres d'intérêt lesquels on veut doser sur nos échantillons «glycémie, la Palet le calcium».

Préparation des calibrateurs

La préparation se fait par une dilution du lyophilisat commercialisé dans l'eau distillée, bien mélanger et laisser reposer pour une durée adéquate et à température ambiante.

➤ **Etape 03 : Contrôle**

Avant d'analyser les échantillons et faire nos analyses de la glycémie, le calcium et la Pal sur les automates on effectue un contrôle quotidiennement pour la surveillance de processus analytique à deux niveaux :

- Niveau 1 : contrôle normale pour vérifier les valeurs normales.
- Niveau 2 : contrôle pathologique pour vérifier les valeurs pathologiques.

❖ **Préparation du sérum de contrôle**

Ouvrir les flacons de lyophilisat de control pathologique et normale avec précaution et y introduire exactement 5ml d'eau distillée ou d'eau désionisé pour chaque flacon refermer les flacon en dissoudre le contenu dans un délai de 30min en mélangeant par légère rotation et éviter la formation d'une mousse.

Tous les contrôles qu'on avait analysés étaient dans les intervalles de confiance.

Si les résultats de l'un ou des deux contrôles ne font pas parties de l'intervalle de confiance, une action corrective doit être menée selon qu'il s'agisse d'erreur grossière, aléatoire ou systématique :

- **Erreurs grossières** : Préparation du réactif, reconstitution du contrôle, positionnement et identification.

- **Erreurs aléatoires "Qualité du contrôle ou de l'analyseur"**

- Vérifier les contrôles.
- Vérifier la propreté des cuvettes réactionnelles, du système optique et la stabilité de la température.
- Une maintenance rigoureuse permet d'éviter la plus part des erreurs liées à l'analyseur.

- **Erreurs systématiques « Le réactif, les conditions opératoires et la calibration »**

- ✓ Vérifier la date de péremption du réactif, conditions de stockage et stabilité, les conditions opératoires, les calibrateurs et les pertes de calibrations.

➤ **Étape 4 : Analyse des échantillons**

Après centrifugation des prélèvements à 3000 tours /2min, on analyse sur les deux automates Horiba et Dimension.

L'intervalle de temps entre leurs analyses sur les deux automates doit être la plus courte possible. Ceci nous permettra d'écartier toute influence autre que celles en relation avec les deux systèmes analytiques que nous voulons comparer.

Résultats

Et

Discussion

I. Résultats

I.1. Glycémie

Les résultats de la glycémie sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau V: Résultats de la glycémie.

N°	Horiba	Siemens
1	0.86	0,94
2	1.22	1
3	1.14	1,18
4	1.15	1,21
5	0.8	0,91
6	0.95	1,05
7	1.27	1.03
8	0.92	0.96
9	0.91	0.84
10	1.08	1.13
11	0.78	0.76
12	1.15	1.06
13	0.64	0.54
14	0.35	0.31
15	0.5	0.58
16	1.02	1.05
17	1.52	1.29
18	1.2	1.11
19	1.07	1.1
20	0.63	0.76
21	1.01	1.05
22	0.85	0.93
23	0.89	1
24	0.86	0.91
25	1.43	1.35
26	0.68	0.77
27	1.04	1
28	0.77	0.86
29	0.8	0.98
30	0.95	0.94

I.1.1. Vérification de la normalité par le test de Shapiro-wilk

W_{obs}	0.9819
p-value	0.5119

I.1.2. Comparaison des résultats par le test de student

T student	0.08
T₀	2
Ddl	58

I.2. Calcium

Les résultats du calcium sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau VI: Résultats du calcium.

N°	Horiba	Siemens
1	89.93	92
2	88.12	88
3	93.48	92
4	83.43	85
5	85.2	84
6	94.25	92
7	86.68	83
8	95.32	92
9	87.14	88
10	93.17	92
11	95.75	96
12	85.74	90
13	93.73	95
14	85.05	86
15	82.21	91
17	94.2	95
18	85.38	90
19	84.99	87
20	80.06	82
21	97.64	96
22	81.09	84
23	80.71	83
24	85.2	89
25	86.3	88
26	83.99	83
27	80.6	82
28	88.73	92
29	91.07	93
30	91.4	91

I.2.1. Vérification de la normalité par le test de Shapiro-wilk

W_{obs}	0.9623
p-value	0.07744

I.2.2. Comparaison des résultats par le test de student

T student	0.8817
T₀	2
Ddl	58

I.3. Phosphatases alcalines

Les résultats de la PAL sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau VII: Résultats de la PAL.

N°	Horiba	Siemens
1	68	71
2	70	74
3	71	80
4	79	82
5	68	73
6	67	69
7	84	90
8	139	147
9	48	50
10	92	72
11	70	56
12	59	41
13	91	88
14	83	69
15	73	75
16	118	88
17	97	78
18	342	294
19	68	58
20	121	107
21	108	83
22	81	74
23	48	61
24	86	71
25	153	131
26	82	70
27	79	57
28	81	134

29	89	90
30	82	83

I.3.1. Vérification de la normalité par le test de Shapiro-wilk

W_{obs}	0.5961
p-value	0.00078

I.3.2. Comparaison des résultats par le test de student

T student	0.4745
T₀	2
Ddl	58

I.4. Répartition des patients selon le sexe :

La série étudiée comprend 36 patients de sexe masculin et 54 de sexe féminin, soit respectivement 40% et 60% de l'ensemble des cas. La sex-ratio Homme/Femme est équivalente à 0.66, cela indique une prédominance féminine. Le graphe suivant montre la répartition des patients de notre série selon le sexe.

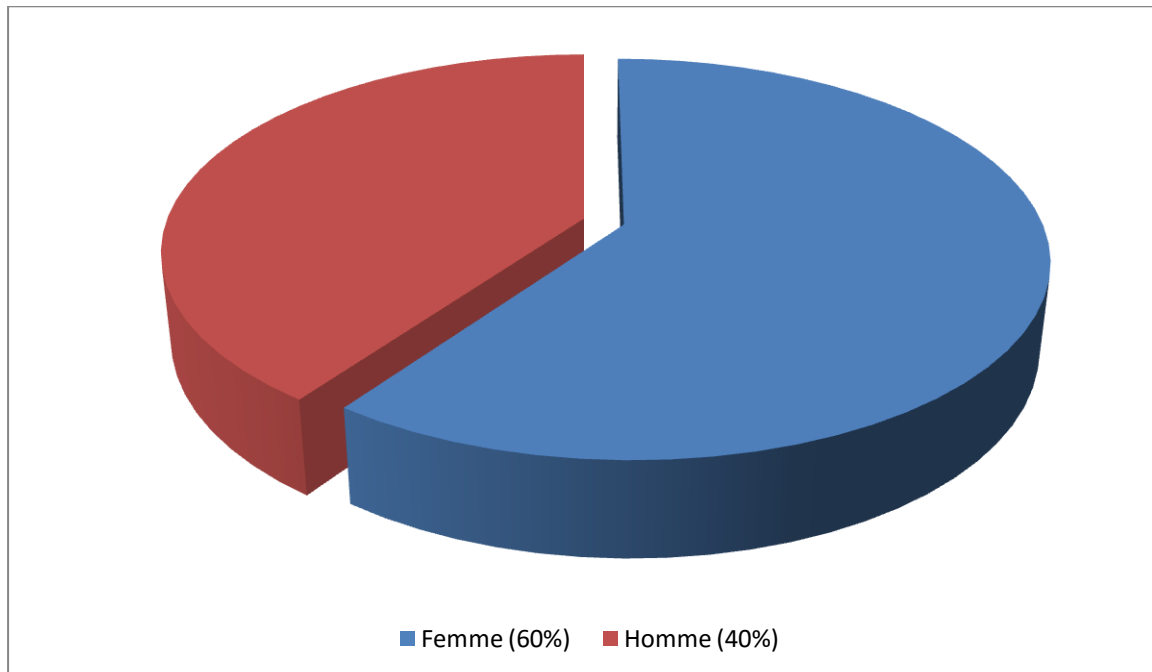


Figure 11: Répartition des patients selon le sexe.

I.5. Répartition des patients selon le service d'admission :

La majorité des patients sont parvenus par les différents services du CHU de Tizi Ouzou l'unité de belloua 45,55 % et les malades hospitalisés 32,22%. Les patients du service biochimie représentent 12,22 % pour chaque un de l'ensemble des patients de l'étude, le reste des patients de notre population sont des externes avec des pourcentages égale à 10 %.

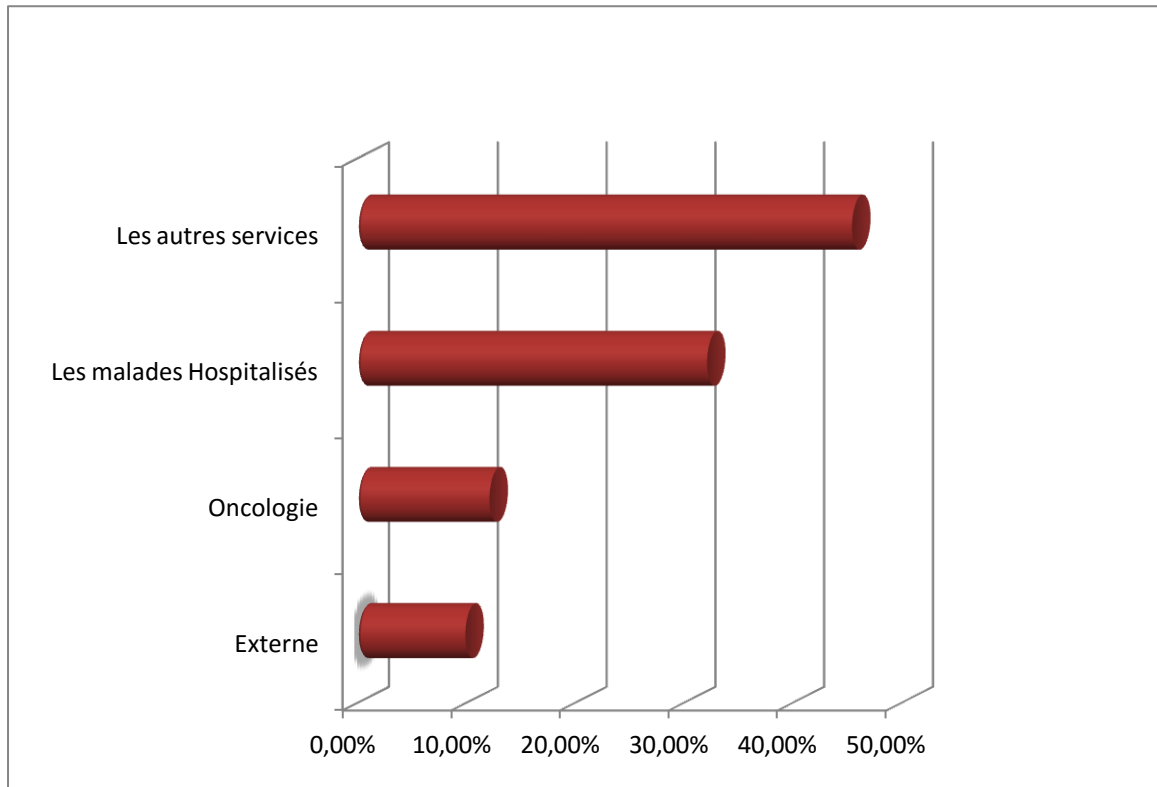


Figure 12: Répartition des patients selon le service d'admission.

les services d'admissions	Externe	Oncologie	Les malades hospitalisés	Autres services
Nombre de patients	9	11	41	29

II. Discussions

Le but ultime de notre étude était de découvrir s'il y a une différence significative entre les résultats obtenus par les deux automates Horiba et Siemens. Pour cela on a travaillé sur 90 sujets différents pour le dosage du calcium, la Pal et de la glycémie. Pour chaque paramètre une série de 30 échantillons. Chaque échantillon est analysé sur chaque automate.

II.1. Glycémie

La détermination du taux de glycémie dans la population étudiée a montré que les résultats sont comparables pour les 30 échantillons que nous avons analysés.

II.1.1. Vérification de la normalité selon le test de Shapiro-Wilk

Selon les résultats obtenus : $W_{obs} > p\text{-value}$; ce qui explique que les résultats suivent une loi normale.

II.1.2. Comparaison des résultats obtenus selon le test de student

Vu que les résultats obtenus suivent une loi normale ; l'utilisation des tests paramétrique est préconisée.

Le nombre d'échantillons est inférieur ou égal à 30 ; d'où l'utilisation du test de student.

Selon les résultats obtenus par le test de student : $t_{calculé} < t_0$; la différence est non significative ce qui explique statistiquement que les résultats de glycémie obtenus avec les deux automates sont comparables.

II.2. Calcium

On constate que les résultats sont comparables pour les 30 échantillons que nous avons analysés.

II.2.1. Vérification de la normalité selon le test de Shapiro-Wilk

Selon les résultats obtenus : $W_{obs} > p\text{-value}$; ce qui explique que les résultats suivent une loi normale.

II.2.2. Comparaison des résultats obtenus selon le test de student

Vu que les résultats obtenus suivent une loi normale ; l'utilisation des tests paramétrique est préconisée.

Le nombre d'échantillons est inférieur ou égal à 30 ; d'où l'utilisation du test de student.

Selon les résultats obtenu par le test de student : $t_{\text{calculé}} < t_0$: la différence est non significative ce qui explique statistiquement que les résultats du calcium obtenus avec les deux automates sont comparables.

II.3. Phosphatases alcaline

On constate que les résultats sont comparables pour les 30 échantillons que nous avons analysés.

II.3.1. Vérification de la normalité selon le test de Shapiro-Wilk

Selon les résultats obtenus : $W_{\text{obs}} > p\text{-value}$; ce qui explique que les résultats suivent une loi normale.

II.3.2. Comparaison des résultats obtenus selon le test de student

Vu que les résultats obtenus suivent une loi normale ; l'utilisation des tests paramétrique est préconisée.

Le nombre d'échantillons est inférieur ou égal à 30 ; d'où l'utilisation du test de student.

Selon les résultats obtenus par le test de student : $t_{\text{calculé}} < t_0$: la différence est non significative ce qui explique statistiquement que les résultats de phosphatases alcaline obtenus avec les deux automates sont comparables.

Conclusion :

L'objectif de cette étude est de comparer les résultats du dosage de quelques paramètres biochimiques (glycémie, Phosphatase Alcaline et le calcium) sur deux automates différents Horiba Pentra APX et Dimension Siemens Rxl max au sein de laboratoires biochimique du CHU de Tizi-Ouzou Unité Belloua.

Nous avons effectué une série de 90 échantillons de malades pour le dosage du calcium, la Pal et de la glycémie sur deux automates qui fonctionnent avec des différentes méthodes. Pour chaque paramètre une série de 30 échantillons. Chaque échantillon est analysé sur chaque automate.

Enfin, Les résultats obtenus, exploités par le test de Student. Ce test nous a permis de déduire l'absence d'une différence significative entre les valeurs des deux automates qui reflète la performance et la précision analytiques de chaque appareils. Les résultats ainsi obtenus sont statiquement comparable pour les trois paramètres biochimiques étudiés.

A l'issu de notre travail, l'objectif que nous avons défini est atteint.

Bibliographie :

1. Heller, S. R., Buse, J. B., Ratner, R., Seaquist, E., Bardtrum, L., Hansen, C. T., ... & Moses, A. C. (2019). To determine if the International Hypoglycaemia Study Group (IHSG) level two low glucose definition can identify clinically relevant hypoglycemia in clinical trials and offer value as an end point for future trials.
2. Xiaoli, L., & Chengwei, L. (2015, July). Research on glucose concentration sensing with single wavelength laser. In 2015 12th IEEE International Conference on Electronic Measurement & Instruments (ICEMI) (Vol. 3, pp. 1547-1551). IEEE.
3. « glucose ». Consulté le: avr. 24, 2021. [En ligne]. Disponible sur: <https://images.app.goo.gl/ZN5ECvSP53iRf9zTA>.
4. Peltier, S. (2004). Régulation de la glycolyse et importance de la composition lipidique membranaire pour l'homéostasie cellulaire cardiaque (Doctoral dissertation, Grenoble 1).
5. Penhoat, A., Stefanutti, A., Rajas, F., & Mithieux, G. (2009). O56 Rôle crucial de la néoglucogénèse intestinale dans le contrôle de l'homéostasie glucidique et énergétique. *Diabetes & Metabolism*, 35, A15.
6. Rambaud, P., Joannard, A., Bost, M., Marchal, A., Rachail, M., & Roget, J. (1973). Trouble de la glycogénolyse dans l'intolérance héréditaire au fructose. Etude de deux observations chez l'enfant. *Arch Fr Pediatr*, 30(10), 1051-1062.
7. Orban, J. C., Deroche, D., & Ichai, C. (2006, March). Sepsis sévère : le contrôle glycémique. In *Annales françaises d'anesthésie et de réanimation* (Vol. 25, No. 3, pp. 275-279). Elsevier Masson.
8. Ouahid, S. (1994). Transport facilité du glucose à travers une membrane échangeuse d'anions avec l'ion borate comme transporteur (Doctoral dissertation, Rouen).
9. https://www.duhoctrungquoc.vn/wiki/en/Facilitated_diffusion.
10. http://biochimej.univangers.fr/Page2/TexteTD/6ModuleS5BG2/ZsuiteTDS5BG2/3RoleIn_sulinGlucagon/1RoleInsulinGlucagon.htm.
11. Shechter, E. (1986). Transports actifs secondaires. *Biochimie*, 68(3), 357-365.
12. "National Diabetes Information Clearinghouse. Hypoglycemia. s.l.," NIH, 2008.
13. Schneeberger, P., & Dhouibi, M. (2006). La régulation de la glycémie : une étude de cas en première S. aster.
14. Colard, E. (2018). Méthode d'obtention d'images TEP paramétriques de la cinétique de fixation du FDG basée sur une approche mathématique intégrant un modèle d'erreur de mesures (Doctoral dissertation, Normandie).
15. Guillaume J. 2004. Troubles du métabolisme minéral dans la Maladie Rénale Chronique, FNAIR, Page 6-9.
16. BOUKAMOUM, E. (2009). Les canaux calciques: Structure et activités (Doctoral dissertation, Université Mohamed BOUDIAF de M'Sila).
17. Camus J-P. 2016, RICQLÈS A, Universalis, « OS », Encyclopædia Universalis. URL : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/os/>
18. Bronner F. 2003, *J Cell Biochem*. Mechanisms of intestinal calcium absorption. Page 387-93.
19. Lagente M. Valdiguié P. 2000, *Biochimie Clinique*, 2ème édition, France, Médicale Inter Nationales. 67-104p.
20. Gidenne S, Vigezzi J-F. 2003. *Annales de Biologie Clinique*, Dosage direct du calcium ionisé plasmatique ou estimation par calcul : intérêts et limites, 61, 393-9.
21. Emile C. 2007, Guide Santé, Analyses et examens, le calcium, Analyses biologiques.
22. Odou M-F., 2015, Analyses Médicales, Doctissimo Phosphore.

23. Deom A, Marzouk S. 2009, FICHE TECHNIQUE 23 : Dosage du calcium et du phosphate, CSCQ.
24. Vassault A. 2007, Calcium total et ionisé, Biologie médicale, Elsevier SAS, 90-10-0260]
25. Cottet, J., & Vittu, C. (1955). Calcium urinaire et lithiases urinaires. *La Presse medicale*, 63(42), 878-879.
26. <https://fr.medipedia.be/hypophosphatasie/comprendre/le-role-essentiel-de-la-phosphatase-alkaline>.
27. Coordinateur P Valdiguié. (2000) *Biochimie Clinique* 2éme éd, EM Inter, 94_98 p ; 144_145 p, 241_245 p.
28. Dufour, J. M., & Hallin, M. (1987). Tests non paramétriques optimaux pour le modèle autorégressif d'ordre un. *Annales d'Economie et de Statistique*, 411-434.
29. Ingrand, P. (2018). Le test t de Student. *Journal d'imagerie diagnostique et interventionnelle*, 1(2), 81-83.
30. Rousson, V. (2013). Tests de Wald et de Student. In *Statistique appliquée aux sciences de la vie* (pp. 115-125). Springer, Paris.
31. <https://www.kitmondo.com/fr/offre/horiba-abx-pentra-400-p10105028/>.
32. <https://www.horiba.com/fra/medical/products/detail/action/show/Product/pentra-c400-575/>.
33. These d'abdoulaye Sissoko, intérêt des marqueurs de l'inflammation dans l'athérosclérose périphérique des membres inférieurs au laboratoire de l'hôpital du mali p 53-55.
34. Dimension Rtl Max® Instrument Specifications decembre 2008.
35. <https://antidrastririo.gr/ar/product/dimension-rxl/>.
36. Tietz, N.W., *Clinical guide to laboratory tests*. Third Ed., (W.B.Saunders eds. Philadelphia USA), (1995), 268.
37. Connerty HV, Briggs AR. *Clin. Chem.* (1965) 11:716-28.
38. Connerty HV, Briggs AR. *Am. J. Clin. Path.* (1966) 45:290-6.
39. Gindler EM, Kin JD, *Am. J. Clin. Path.* (1972) 58:376-82.
40. Bauer PJ. *Anal. Biochem.* (1981) 110: 61-72.
41. Ehret W, Heil W, Schmitt Y, Töpfer G, Wisser H, Zawta B et al. Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations and stability of blood, plasma and serum samples. WHO publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2: 25 (2002).
42. Abitch K, El-Samalouti V, Junge W, Kroll M, Luthe H, Treskes M et al.. Multicenter evaluation of new GGT and ALP reagents with new reference standardization and determination of 37°C reference intervals. *Clin Chem Lab Med* 2001 ; 39, Special Supplement pp S346.
43. Tietz NW, Shuey DF. Reference intervals for Alkaline Phosphatase Activity Determined by IFCC and AACC Reference Methods. *Clin Chem* 1986 ; 32: 1593-1594.