

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur
et de la Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

جامعة مولود معمري

FACULTE DE MEDECINE
TIZI OUZOU

كلية الطب

Département de Pharmacie

ⵜⴰⵎⴰⵎⵓⵔⵉⵜ ⵜⴰⵎⴰⵎⵓⵔⵉⵜ ⵜⴰⵎⴰⵎⵓⵔⵉⵜ ⵜⴰⵎⴰⵎⵓⵔⵉⵜ

تيزي وزو

N° d'ordre :

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

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

Présenté et soutenu publiquement

Le 11 juillet 2019

Sous le thème

INTERFERENCES ANALYTIQUES EN ANALYSE IMMUNOCHIMIQUE : CAS DES DLIS CHEZ LES NOUVEAU-NES.

Laboratoires de Biochimie et de Toxicologie - C.H.U de Tizi-Ouzou- Janvier à Mars 2019

Réalisé par :

Encadrés par :

Melle DAOUDI Amel

Promotrice : Dr. BELAZOUGUI Ourdia.

M LADDI Yacine

Co-promotrice : Dr. KITOUS Nadia.

Melle MEZIANI Ludmilla

Membres du jury :

Pr. MEKACHER L.R

MCA

Faculté de médecine UMMTO

Président

Dr. SADOU

Assistante

Faculté de médecine UMMTO

Examinatrice

Dr. ISSIAKHEM

Assistante

Faculté de médecine UMMTO

Examinatrice

ANNEE UNIVERSITAIRE: 2018/2019

Dédicaces

Le cœur nostalgique, je referme à travers ce modeste travail, le chapitre de mes six années de Pharmacie. En dépit des difficultés, parfois nombreuses et laborieuses, du chemin qui m'a souvent paru long, et des lourds efforts que cela a suscité, j'ai eu le privilège d'être entourée et de partager ce voyage avec le meilleur entourage qui soit. Je me sens bénie et leur dédie, en plus de tant de souvenirs, ce mémoire de fin d'études ;

À mes parents, vous êtes le début de tout, et je vous dois beaucoup.

Merci pour les opportunités, les leçons et les encouragements.

À ma mère, en qui je ne cesserai jamais de croire. Merci pour tout. Où que je sois, j'emmènerai toujours du toi avec moi.

À mes sœurs, votre lourde absence n'égale pas votre soutien précieux. Vous êtes et serez à jamais dans mon cœur, et me rendez fière d'être des vôtres et d'avoir partagé ma première aventure avec vous, figures féminines fortes et colorées ; mes inspirations.

À mon frère, puisse la vie faire de toi le meilleur des hommes et ne te donner que le meilleur. À mon oncle, ma première et sans doute ma plus grande inspiration. Tu portes tellement de mes souvenirs et je t'en remercie.

À ma famille, à jamais ; mes racines.

À Delia. Mille mercis pour le vent de renouveau, pour la tornade de projets et pour les tempêtes d'étoiles. Ton soutien m'a mené jusque-là et continuera je l'espère, à me faire avancer.

Le chaînon manquant.

À mes camarades, certains devenus amis, désormais collègues.

À mes enseignants ; mes aînés pour toujours.

À mes promotrices ; Dr. O. Belazougui & Dr. N. Kitous ;

Merci pour la confiance, le soutien et vos efforts. Ce fût un honneur de travailler avec vous.

À PharmAvenir, où tout a commencé ; mes premiers accomplissements et mes plus belles leçons. Siège de tant de partage et de plus encore d'apprentissage, sans doute la meilleure porte ouverte au long de ces SXX ans. Quel honneur ce fût, de reprendre le flambeau.

C'est donc en « Ancien » que je souhaite longue vie à PharmAvenir.

Enfin, à ma Phamily ; mes ailes.

Merci pour toute la lumière que vous mettez à ma vie. Vous faites de cette aventure la meilleure de toutes et je suis bénie d'avoir ces millions de précieux souvenirs pour me nourrir le cœur.

Vous avez parsemé ce parcours de magie, mais le voyage est loin d'être fini.

À mon fabuleux trinôme, je n'aurais pu rêver meilleurs copilotes. Par-delà les embûches, travailler avec vous m'a ravie et j'ai le cœur serré à penser que le "Frio toxica" a fièrement vaincu !

À tous et toutes, je vous dédie cette réussite, et vous promets d'en accomplir davantage.

Amel

Dédicaces

A la meilleure mère du monde, ma confidente, ma chère maman Meriama

Au plus respectueux des pères, mon cher papa Abdelmadjid

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être. Aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma considération et mes profonds sentiments envers vous. Maman, ma prune, J'ai du mal à avoir les mots nécessaires pour parler de toi. Ce travail est le fruit de tes nombreux sacrifices, de tes multiples souffrances pour mon éducation mais aussi un fruit de tes bénédictions. Je prie le bon Dieu de vous bénir, de veiller sur vous, en espérant que vous seriez toujours fiers de moi.

A mes très chers frères, Samir, Kamel, Nabil et Meziane

A mes précieuses sœurs Siham et Ouissam

A mes beaux-frères Abdarzak et Rachid

A mes adorables belles-sœurs Souad et Lydia

A ma nièce Meriem et mon neveu Areslane

Nulle dédicace ne saurait exprimer mon estime et mon profond amour Vos sacrifices inoubliables, vos encouragements tout au long de mes études m'ont permis de concrétiser mes objectifs. Qu'Allah vous gardera toujours à moi.

A mes chers binômes AméDao et Milovany et à leurs familles

A ma promotrice Dr O. Belazougui et ma co-promotrice Dr N. Kitous

A tous mes amis et collègues de promotion

*Au personnel de la Pharmacie L'ADDI, à l'équipe ONDST, Denzer College &
Denzer Technologies*

Yacine

Dédicaces

*Au nom de Dieu, le clément le miséricordieux
Je tiens à saisir cette occasion pour dédier et adresser ma
gratitude et mes plus profondes reconnaissances :*

A ma mère et mon père adorés qui m'ont soutenu et encouragé durant toutes ces longues années de mon cursus, je perds mes mots, quoi que je dise ne sera guère suffisant pour exprimer tout ce que je ressens ; sans vous je n'en serai pas là aujourd'hui vous êtes la lumière qui illumine ma vie ; je vous en serai reconnaissante à jamais que le bon Dieu vous garde à mes côtés je vous aime.

A ma chère grand-mère, merci pour l'intérêt l'amour et l'affection que tu m'apporte chaque jour tu es et tu seras toujours mon précieux refuge que Dieu t'accorde une longue vie inchaallah !

A la mémoire de mes grands parents, je vous porte toujours dans mon esprit et mon cœur. Que vos âmes reposent en paix !

A mon cher frère Amar, merci de donner plus de gout à notre vie de famille, je te souhaite tout ce qu'il y a de meilleur.

A ma grande sœur, mes neveux et tous les membres de ma famille et mes proches, qui m'ont affectueusement supporté et qui ont partagé avec moi toutes les émotions lors de la réalisation de ce travail.

A tous mes amis, camarades en particulier à PHAMILY qui ont pris une partie de mon cœur, je vous dis que je ne risque pas de vous oublier un jour et je vous souhaite une infinité de réussites et de bonheurs dans vos vies;

Aux deux personnes exceptionnelles Amel et Yacine, avec qui j'ai eu l'immense plaisir de travailler, je ne saurai quoi vous dire pour vous remercier de m'avoir soutenu et surtout supporté ...Je remercie Dieu de vous avoir mis sur mon chemin de vie ! C'est avec une grande fierté que je vous dis un de vos rêves voit le jour inchaallah ce sera la clé qui ouvrira toutes les portes de réussites futures, je vous souhaite des succès dans vos vies personnelle et professionnelle.

Mes remerciements et dédicaces s'étendent également à tous mes enseignants durant les années d'étude.

A tous les professionnels qui ont accepté de me faire partager leur expérience, et toute personne ayant contribué de près ou de loin à l'exécution de ce modeste travail.

Mille mercis !

Ludmilla

Remerciements

Dieu merci, d'avoir nourri la force, la patience et la détermination d'accomplir ce modeste travail.

A Notre Promotrice,

Dr. Belazougui Ourdia, Maitre-assistante Hospitalo-Universitaire en Toxicologie

Nous vous remercions d'avoir dirigé ce travail. Nous avons eu grand plaisir de travailler sous votre encadrement. Recevez chère maître, à travers ce travail le témoignage de notre grande reconnaissance et de notre profond respect.

A Notre Co-Promotrice,

Dr. Kitous Nadia, Maitre-assistante Hospitalo-Universitaire en Epidémiologie

Nous vous remercions d'avoir donné de votre temps et de votre implication. Nous vous sommes reconnaissants de toujours avoir été disponible, attentive et rigoureuse pour la réalisation de notre travail et sommes heureux d'avoir partagé cela avec vous.

Aux membres de notre jury d'évaluation ; merci pour l'effort que vous avez déployé :

Au Pr. MEKACHER L.R. Professeur en Toxicologie

Nous sommes reconnaissants et honorés de vous voir présider le jury d'évaluation de ce mémoire. Recevez l'expression de notre profond égard.

Au Dr. SADOU S. Assistante Hospitalo-Universitaire en Toxicologie

Nous vous remercions d'avoir répondu présent à l'examinât de ce mémoire, et vous sommes reconnaissants pour l'intérêt et l'implication que vous y avez porté.

Au Dr. ISSIAKHEM, Maitre-assistante Hospitalo-Universitaire en Epidémiologie

Merci de nous faire l'honneur de siéger au sein de ce jury. Recevez notre profond respect.

A nos chers invités ; merci de nous honorer par votre présence:

Au Pr. CHELLAH ; Professeur en Pédiatrie

Au Dr. SAIDI Maitre-assistante Hospitalo-Universitaire en Epidémiologie

Nous remercions également le personnel des laboratoires de Biochimie et de Toxicologie, ainsi que le service d'Epidémiologie du CHU de Tizi-Ouzou ; particulièrement le **Dr. MESSAD** et le **Dr. CHERRAD** qui nous ont généreusement soutenu et aide. Merci pour vos accueils, votre sollicitude, l'intérêt dont vous avez fait preuve et le soutien que vous avez apporté.

Nous tenons à exprimer nos profondes gratitude au **Dr. DAHMANI, MAHU** et chef de service du laboratoire de Biochimie du CHU de Tizi-Ouzou, pour la confiance que vous nous

avez accordée en nous autorisant l'accès à votre laboratoire. Soyez rassuré cher maître de nos sincères reconnaissances.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance à l'ensemble du corps enseignant, notamment au **Dr. TOUDERT, MAHU** en Immunologie pour leur contribution scientifique à la réalisation de ce travail.

A tous nos camarades et amis, mille mercis pour votre soutien et vos encouragements, nous y sommes enfin parvenus !

TABLE
DES
MATIERES

Table des matières

Liste des abréviations	VII
Liste des tableaux	IX
Liste des figures	X
Liste des iconographies	XI
Liste des graphes	XII
Liste des organigrammes	XIII
Liste des annexes	XIII
Introduction	1

PARTIE THEORIQUE

Introduction générale.....	1
----------------------------	---

Chapitre I

Les interférences analytiques en analyse immunochimique	4
1. L'analyse immunochimique.....	6
1.1. Définitions.....	6
1.1.1. Les analyses immunochimiques	6
1.1.2. Anticorps ou immunoglobuline et paratope	6
1.1.2.1. Des anticorps polyclonaux	7
1.1.2.2. Des anticorps monoclonaux	7
1.1.3. Antigène et épitopes.....	7
1.1.4. Complexe immun	8
2. Méthodes de dosage.....	8
2.1. Méthodes utilisant un marqueur.....	8
2.1.1. Méthodes en phase hétérogène	8
2.1.1.1. L'analyse radio-immunologique RIA.....	8
2.1.1.2. L'analyse immuno-enzymatique ELISA	9
2.1.1.2.1. ELISA direct (le conjugué est un anticorps marqué à une enzyme)	9
2.1.1.2.2. Le conjugué est un antigène marqué par une enzyme.....	9
2.1.1.2.3. ELISA en sandwich	10
2.1.1.3. Techniques de chimiluminescence	10
2.1.1.3.1. Chemiluminescent Microparticle Immuno-Assay (CMIA).....	10
2.1.1.3.2. L'électro-chimiluminescence ECLIA	10
2.1.2. Les méthodes en phase homogène.....	12
2.1.2.1. Enzyme-Multiplied Immunoassay Technic (EMIT).....	12
2.1.2.2. Clone Enzyme Donor Immuno Assay (CEDIA).....	12
2.1.2.3. Fluorescence Polarization Immuno-Assay (FPIA).....	13
2.1.2.4. Kinetic Interaction of Microparticles in Solution (KIMS).....	13
2.2 Méthodes sans marqueurs.....	15
2.2.1. Par agglutination.....	15
2.2.1.1. Test d'agglutination directe.....	15
2.2.1.2. Test d'agglutination indirecte	16
2.2.2. Par précipitation.....	16
3. Interférences analytiques en analyse immunochimique.....	16
3.1. Types d'interférences modifiant la concentration de l'analyte dans l'échantillon.....	17

3.1.1. L'effet matrice	18
3.1.2. Les facteurs pré-analytiques	18
3.1.3. La spécificité	19
3.1.4. Les protéines de liaison aux hormones	20
3.1.5. Les interférences d'anticorps	20
3.1.5.a. Anticorps hétérophiles	20
3.1.5.b. Anticorps Humains Anti-animaux AHAA	21
3.1.5.c. Anti-corps anti-analyte, antihormone	22
3.1.6. Effet crochet à forte dose d'antigène ou High-dose Hook effect	22
3.1.7. Autres protéines	23
3.2. Minimiser les interférences d'anticorps dans les immuno-dosages.....	24
3.3. Incidence de l'interférence dans les essais immunologiques.....	25
3.4. Détection et contrôle des interférences dans les échantillons suspects.....	26

Chapitre II

La digoxine.....	28
1. Historique.....	29
2. Origine de la digoxine.....	30
2.1. La digitale pourpre (<i>Digitalis purpurea</i> L.).....	31
2.2. La digitale laineuse (<i>Digitalis lanata</i>).....	32
3. Structure de la digoxine.....	32
3.1. Relation structure-activité.....	33
4. Formes galéniques et posologies.....	33
5. Pharmacocinétique.....	34
5.1. Absorption.....	34
5.2. Distribution.....	34
5.3. Métabolisme.....	35
5.4. Elimination.....	35
5.5. Demi-vie.....	35
5.6. Facteurs influençant la pharmacocinétique de la digoxine.....	36
5.6.1. Le vieillissement	37
5.6.2. Insuffisance rénale	37
5.6.3. Dysthyroïdie	37
5.6.4. Insuffisance respiratoire.....	37
5.6.5. Désordres hydroélectrolytiques	38
5.6.6. Médicaments	38
6. Mécanisme d'action.....	37
6.1. Rappel physiopathologique.....	37
6.2. La digoxine.....	38
6.2.1. Effet inotrope positif	39
6.2.2. Action électrophysiologique	40
6.2.3. Effet de régulation du tonus sympathique	40
7. Effets et indications de la digoxine.....	40
8. Interactions médicamenteuses.....	40
8.1. Principaux médicaments substrats de la P-gp.....	41
9. Contre-indications de la digoxine.....	41
9.1. Formelles	41
9.2. Relatives.....	42
10. Intoxication à la digoxine.....	42
10.1. A dose thérapeutique.....	42

10.1.1. Des effets cardiaques.....	42
10.1.2. Effets extracardiaques.....	42
10.2. A dose toxique.....	43
10.2.1. Prise en charge de l'intoxication digitalique	43
11. Le suivi thérapeutique et pharmacologique.....	44
11.1. Réalisation du STP de la digoxine.....	44
11.1.1. Prélèvement, transport et conservation	45
11.1.2. Interprétation des résultats	46

Chapitre III

Substances analogues à la digoxine « DLIS ».....	46
1. Historique.....	48
2. Structure des DLIS.....	49
3. Origine des DLIS.....	50
3.1. DLIS exogènes.....	50
3.2. DLIS endogènes : <i>Endogenous Digoxin-Like immunoreactive Factors</i> dits « EDLF».....	53
4. Le rôle physiologique potentiel des DLIS.....	54
5. Population à risque.....	54
5.1. DLIS dans les conditions physiologiques.....	55
5.2. DLIS et hypervolémie.....	56
5.3. DLIS et maladie bipolaire.....	57
6. Détection de DLIS dans les fluides corporels.....	58
7. Les EDLF chez le fœtus humain.....	58
8. Le placenta comme origine des EDLF.....	59
9. Rôle des EDLF dans la grossesse physiologique.....	60
10. EDLF et troubles hypertensifs lors de la grossesse.....	61
10.1. EDLF maternels et prééclampsie.....	61
11. EDLF maternels, fœto-placentaires et néonataux.....	61
12. Influence de l'âge gestationnel.....	63
13. Approche analytique.....	63
14. Interférence des DLIS dans le dosage de la digoxine.....	64
15. Élimination des interférences des DLIS dans les immuno-dosages.....	66

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I

Matériel et méthode.....	68
1. Type et période de l'étude.....	70
2. Population et lieu de l'étude.....	70
2.1. Critères d'inclusion.....	70
2.2. Considérations éthiques.....	70
2.3. Taille échantillonnale.....	70
3. Etape pré-analytique.....	70
3.1. Fiche d'enquête individuelle.....	70
3.2. Moyens humains et matériels.....	71
3.2.1. Personnes ressources.....	71
3.2.2. Matériel de prélèvement.....	72
3.2.3. Matériel d'analyse.....	73
3.2.3.2. Principe de la technique de dosage par Cobas Integra 400+ (KIMS).....	73
3.2.4. Matériels biologiques.....	75

3.2.5. Autres consommables.....	76
3.3. Déroulement de l'étude.....	77
4. Étape analytique.....	77
4.1. ARCHITECT i1000 (Abbott®).....	77
4.1.1. La calibration.....	77
4.1.2. Le contrôle qualité.....	78
4.1.3. Calcul des résultats.....	79
4.2. COBAS Integra 400+ (Roche Diagnostics®).....	79
4.2.1. La calibration.....	79
4.2.2. Le contrôle qualité.....	80
4.2.3. Calcul des résultats.....	80
5. Limites d'utilisation et interférences.....	80
6. Indicateurs de l'étude.....	81
7. Taux de détectabilité des DLIS.....	81
8. Arguments décisionnels.....	82
9. Analyse et exploitation des données.....	82
9.1. Définition des variables :.....	82

CHAPITRE II

Résultats	84
1. Description de la population de l'étude.....	85
1.1.Age.....	85
1.2.Sexe.....	85
1.3.Poids de naissance.....	86
1.4. Maturité de la gestation.....	86
1.5.Age gestationnel.....	87
1.6.Prématurité.....	87
1.7.Mode de délivrance.....	88
1.8.Type de grossesse.....	89
1.9.Parité chez la mère.....	89
1.10. Type d'alimentation.....	90
1.11. Morbidité.....	90
1.11.1. Comorbidités maternelles.....	90
1.11.2. Morbidité liée à la gestation.....	92
2. Caractéristiques cliniques.....	93
2.1. Motifs d'hospitalisation.....	93
2.2. Traitement(s) instauré(s).....	95
3. Caractéristiques biologiques.....	96
3.1. Fréquence de détection des DLIS.....	96
3.2. Dosage des DLIS selon deux analyseurs (COBAS Integra et Architect).....	97
3.2.1. Analyseur COBAS Integra 400+ (Roche®).....	97
3.2.2. Analyseur ARCHITECT i1000 (Abbott®).....	97
3.3. Autres paramètres biologiques.....	98
3.3.1. Taux de bilirubine indirecte.....	98
3.3.2. Kaliémie.....	99
4. Facteurs de risque de survenue de l'interférence.....	99
Vignettes cliniques.....	103

CHAPITRE III

Discussion	108
1. Biais et contraintes de l'étude.....	110
2. Analyse de la population étudiée.....	111
2.1.Facteurs de risque	111
2.1.1. Age.....	111
2.1.2. Sexe.....	111
2.1.3. Poids de naissance.....	112
2.1.4. Maturité et âge de la gestation.....	112
2.1.5. Mode de délivrance.....	112
2.1.6. Type de grossesse.....	113
2.1.7. Antécédents maternels.....	113
2.1.8. Morbidité.....	114
2.1.9. Interférences biologiques.....	116
2.1.10. Interférences médicamenteuses.....	117
3. Comparaison de la fréquence de survenue de l'interférence des DLIS.....	118
4. Etude des cas cliniques	119
4.1. Premier cas (B.M).....	119
4.2. Deuxième cas (S.M).....	121
4.3. Troisième cas (B.A).....	122
4.4. Quatrième cas (G.A).....	123
4.5. Cinquième cas (B.N).....	124
Conclusion	126

Références bibliographiques

Annexes

Liste des abréviations

Ac : Anticorps
ADA : Anticorps anti-digoxine
ADN : Acide désoxyribonucléique
AG : age gestationnel
Ag : Antigène
Ag-Ac : Complex immun Antigène-Anticorps
AGL : Acides gras libres
AHAA : Anticorps humains anti-animaux
AHAS : Anticorps humains anti-souris
Anti-id : Anticorps naturels idiotypiques
ARN : Acide ribonucléique
A-V : Artère-veine
Béta-hCG : human chorionic gonadotropin
Ca²⁺ : Sels de Calcium
CEDIA: Clone Enzyme Donor Immuno Assay
CMIA : Chemiluminescent Microparticle Immuno-Assay
CMIA : Chemiluminescent MicroparticleImmuno-Assay
DLIS: Digoxin-like immuno-reactive substances
EA : Enzyme acceptor
E-Ag : Conjugué enzyme-Antigène
ECG : Electrocardiogramme
ECLIA : Electro-Chemi-Luminescent ImmunoAssay
eCTS : Stéroïdes cardiotoniques endogènes
ED : Enzyme donor
EDLF : Endogenous digoxin-like factors : facteurs endogènes analogues à la Digoxine
ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay
EMIT: Enzyme Multiplied Immunoassay Technic
FAB : Fragment A B
Fc : Fragment constant
FPIA : Fluorescence Polarization Immuno-Assay
FR : Facteur rhumatoïde
FSH : Follicle Stimulating Hormone
FT4 : Thyroxine libre
G6PDH : Glucose 6-phosphate déshydrogénase
GH : *Growth Hormon* (Hormone de croissance)
HBR : Heterophile blocking reagents
HPLC : Chromatographie liquide à haute performance
IEP : Immuno-électrophorèse
IgG : Immunoglobuline G
IgM : Immunoglobuline M
IIR : Immunoglobulin inhibiting reagent
IMA : *Immunometric assay*

KIMS: Kinetic Interaction of Microparticles In Solution

LCR : Liquide céphalo-rachidien

LH : Luteinizing hormone

MBG : Marino-bufa-génine

MEIA : *Microplate Enzyme ImmunoAssay*

Mg²⁺ : Sels de Magnesium

mU/L : milliunité par litre

NAD/NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide oxydé et réduit.

Ng : nanogrammes

NKA : Pompe Na⁺/K⁺ ATPase.

nm : nanomètres

OH : oxyde d'hydrogène

PE : Pré-éclampsie

PEG : Polyéthylène glycol

P-gp : Glyco-protéine P

P-gp : glycoprotéine P

PMCA : Plasma membrane Ca²⁺ ATPase

pmol/l : picomoles par litre

RCIU : Retard de croissance intra-utérine

RIA : Radio-Immuno Assay

SA : Semaines d'amenorrhée

SERCA : Sarco-endoplasmic reticulum Ca²⁺ ATPase

SM : Spectrométrie de masse

STP : Suivi thérapeutique pharmacologique

Tg : Thyroglobuline

TPA : Tripropylamine

TR : Temps de rétention

URL : Unités relatives de lumière

Vd : volume de distribution

Zn²⁺ : Sels de Zinc

Liste des tableaux

Partie théorique

Tableau I. Les différentes formes galéniques et les posologies de la digoxine.

Tableau II. Médicaments pouvant interagir avec la digoxine.

Partie pratique

Tableau I. Répartition de la population de l'étude sur la base des antécédents gynéco-obstétricaux de la mère.

Tableau II. Distribution de la population sur la base des antécédents médico-chirurgicaux de la mère.

Tableau III. Répartition de la population de l'étude selon le traitement administré aux nouveau-nés.

Tableau IV. Répartition des nouveau-nés selon la morbidité.

Tableau V. Répartition de la population de l'étude selon le traitement administré aux nouveau-nés

Tableau VI. Fréquence de détection des DLIS chez les nouveau-nés

Tableau VII. Comparaison des paramètres statistiques obtenus sur les deux analyseurs

Tableau VIII. Comparaison des résultats obtenus par dosage sur les deux analyseurs.

Liste des figures

Partie théorique

Figure 01. Structure d'une immunoglobuline.

Figure 02. *ElectroChemiLuminescent ImmunoAssay*.

Figure 03. *Kinetic Interaction of Microparticles in Solution*.

Figure 04. Courbe illustrant l'effet crochet survenant lors d'un excès d'Ag.

Figure 05. Mécanisme du *High-dose hook-effect*.

Figure 06. William Whithering et son ouvrage.

Figure 07. *Digitalis purpurea L.*

Figure 08. *Digitalis lanata*.

Figure 09. Structure moléculaire de la digoxine.

Figure 10. Métabolisme de la digoxine et de la digitoxine.

Figure 11. Effet de la digoxine sur la pompe Na^+/K^+ ATP^{ase}.

Liste des iconographies

Partie pratique

Iconographie 1. Matériels consommables

Iconographie 2. Automate Architect ci4100 - laboratoire de Toxicologie de Tizi-Ouzou unité NEDDIR Mohammed.

Iconographie 3. Automate COBAS Integra 400+ - laboratoire de Biochimie du CHU Tizi-Ouzou unité NEDDIR Mohammed.

Iconographie 4. Réactifs de dosage de la digoxinémie sur Cobas Integra 400+

Iconographie 5. Réactifs de dosage de la digoxinémie sur l'Architect i 100.

Iconographie 6. Calibrants ARCHITECT *iDigoxin*.

Iconographie 7. Contrôles Lyphochek ARCHITECT *iDigoxin*.

Iconographie 8. Calibrants Preciest TDM I pour COBAS Integra 400+ (Roche Diagnostics®).

Iconographie 9. TDM Contrôles.

Liste des graphes

Partie pratique

- Graphe 1.** Répartition de la population d'étude selon l'âge.
- Graphe 2.** Répartition de la population de l'étude selon le sexe.
- Graphe 3.** Répartition de la population de l'étude selon le poids de naissance.
- Graphe 4.** Répartition de la population de l'étude selon la maturité de la grossesse.
- Graphe 5.** Répartition de la population de l'étude selon l'âge gestationnel.
- Graphe 6.** Répartition de la population d'étude selon le mode de délivrance.
- Graphe 7.** Répartition de la population de l'étude selon le type de grossesse.
- Graphe 8.** Répartition de la population selon la parité chez la mère.
- Graphe 9.** Répartition de la population étudiée selon l'alimentation reçue.
- Graphe 10.** Répartition de la population d'étude selon la notion de comorbidités maternelles préexistantes.
- Graphe 11.** Répartition de la population de l'étude selon la notion de morbidité liée à la gestation.
- Graphe 12.** Dosage des DLIS sur l'analyseur COBAS Integra 400+
- Graphe 13.** Dosage des DLIS sur l'analyseur ARCHITECT i1000.
- Graphe 14.** Répartition de la population selon le taux de bilirubine indirecte.
- Graphe 15.** Répartition de la population de l'étude selon la kaliémie

Liste des organigrammes

- Organigramme 1.** Répartition de la population de l'étude selon la prématurité.
- Organigramme 2.** Répartition de la population d'étude selon les paramètres biologiques.

Liste des annexes

Annexe I. Fiche de renseignements.

Annexe II. Fiche technique centrifugeuse ROTOFIX 32 (Hettich®).

Annexe III. Fiche technique ARCHITECT i1000 (Abbott®) pour le dosage de la digoxine.

Annexe IV. Fiche technique COBAS Integra 400+ (Roche®) pour le dosage de la digoxine.

Annexe V. Demande d'autorisation d'accès.

Annexe VI. Courbe de croissance néonatale de LUBCHENCO

Annexe VII. Définition de la CIM-10.

Annexe VIII. Tableau d'analyse des résultats de l'étude

INTRODUCTION GENERALE

Cela fait déjà, plus de trois siècles que le recours à la digitale pourpre s'est édifié dans le schéma thérapeutique des maladies cardiaques. En effet, à cette époque, on connaissait le pouvoir cardiotonique de cette substance et son rôle incontestable dans la prise en charge de l'insuffisance cardiaque. C'est cet usage récurrent et reconnu efficace qui générera de nombreuses études autour de cette plante, études qui ont notamment réussi à identifier ce qu'on appelle communément aujourd'hui « les digitaliques cardiotoniques ».

Ces derniers, étant des hétérosides possédant un effet inotrope positif, extraits à partir de trois espèces végétales principales : la digitale, le strophanthus et la scille et essentiellement employés en cardiologie, font depuis de nombreuses années l'objet de controverse, car souvent incriminés dans des cas d'intoxications volontaires ou accidentelles.

Ceci a conduit à une configuration précise et contrôlée du traitement digitalique, et a imposé un suivi étroit à travers des dosages biologiques qui emploient des méthodes d'analyse spécifiques ayant connu nombreuses avancées, allant de méthodes classiques aux méthodes immuno-chimiques.

Actuellement les méthodes d'immuno-analyse permettent un suivi biologique praticable et concret des toxiques. Cependant, la survenue de résultats artéfactuels peut entraîner une mauvaise interprétation clinique des résultats biologiques d'un patient et mener ainsi vers un diagnostic erroné.

En ce qui concerne la digoxine ; unique représentant des digitaliques tonicardiaques actuellement sur le marché, on lui connaît depuis peu des interférences encore peu documentées, où l'on peut incriminer des substances regroupées sous la dénomination de « *Digoxin-Like Immuno-Reactive Substances* » ou « DLIS » littéralement substances immuno-réactives analogues à la digoxine, qui possèdent une influence indiscutable sur les résultats du dosage analytique.

La survenue de ces interférences chez certaines populations à risque, telles que les nouveaux-nés, implique l'importance d'une évaluation de leur apparition chez celles-ci.

Objectif principal

- Mesurer la fréquence de détection des substances immunoréactives analogues à la digoxine dites *Digoxin-Like immunoReactive Substances* (interférences analytiques dans le dosage de la digoxine) chez les nouveau-nés.

Objectifs secondaires

- Comparer la fréquence de survenue d'interférences analytiques dues aux DLIS lors du dosage de la digoxine par deux méthodes distinctes qui sont : la méthode par Interaction Cinétique de Microparticules en Solution (*Kinetic Interaction of Microparticles in Solution*) et la méthode par Chimiluminescence de Microparticules (*Chemiluminescent Microparticle Immuno-Assay*).
- Identifier les facteurs de risque pouvant être incriminés dans l'apparition de ces interférences :
 - Facteurs de risque liés à la gestation et la période néonatale.
 - Facteurs métaboliques.

CHAPITRE I

LES INTERFERENCES

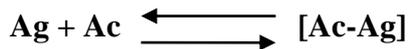
ANALYTIQUES

EN ANALYSE

IMMUNOCHIMIQUE

Introduction

C'est en 1959 que Yalow et Berson proposent un principe de dosage révolutionnaire dans lequel un anticorps repère et capture une substance à doser dite « analyte », reconnue comme l'antigène de cet anticorps, sur la base de la réaction équilibrée suivante :



Réaction caractérisant désormais, ce que l'on définit comme le dosage immunologique. Ces dosages se réfèrent à une gamme d'étalonnage établie à l'aide de cinq ou six étalons ou standards qui possèdent chacun des concentrations bien connues en analyte, ils sont dits alors « relatifs ».

Il existe deux grands types d'immuno-dosages :

- Les dosages par compétition ;
- Les dosages non-compétitifs ou immuno-métriques.

Les dosages par compétition utilisent un seul anticorps, le plus souvent polyclonal, présent en faible concentration par rapport à celle de l'antigène (défaut d'anticorps). L'analyte entre en compétition avec le traceur vis-à-vis de l'anticorps. Les complexes formés sont alors isolés par précipitation ou fixation sur une phase solide. Le signal émis par la fraction liée est mesuré, il décroît quand la concentration de l'analyte augmente.

La fabrication en grande quantité d'anticorps monoclonaux a permis le développement de dosages en excès d'anticorps : les dosages immuno-métriques (IMA) ou dosages sandwich. Au cours desquels, l'analyte est reconnu par au moins deux anticorps, l'un étant marqué (traceur) et l'autre fixé sur une phase solide. Après séparation des fractions libre et liée, le signal émis par le traceur lié à la phase solide est mesuré. Il augmente avec la concentration de l'analyte. (1)

1. L'analyse immunochimique

1.1. Définitions

1.1.1. Les analyses immunochimiques

Ce sont des méthodes de dosage immunologiques qualitatives et/ou quantitatives in-vitro de biomolécules (pouvant s'agir d'hormones, médicaments, vitamines, protéines pathologiques etc.), se basant sur la constitution de complexes immuns [Antigène- Anticorps] ; l'anticorps ou l'antigène repère et capture la substance à doser (analyte) qu'il reconnaît comme étant son antigène/anticorps ; les complexes immuns ainsi formés, seront ensuite analysés par divers procédés. (1)

1.1.2. Anticorps ou immunoglobuline et paratope

Protéine du sérum sanguin sécrétée par les lymphocytes B (cellules de l'immunité) en réponse à une activation du système immunitaire suite à l'introduction d'une substance étrangère (antigène) dans l'organisme. (2) (**Figure 01**)

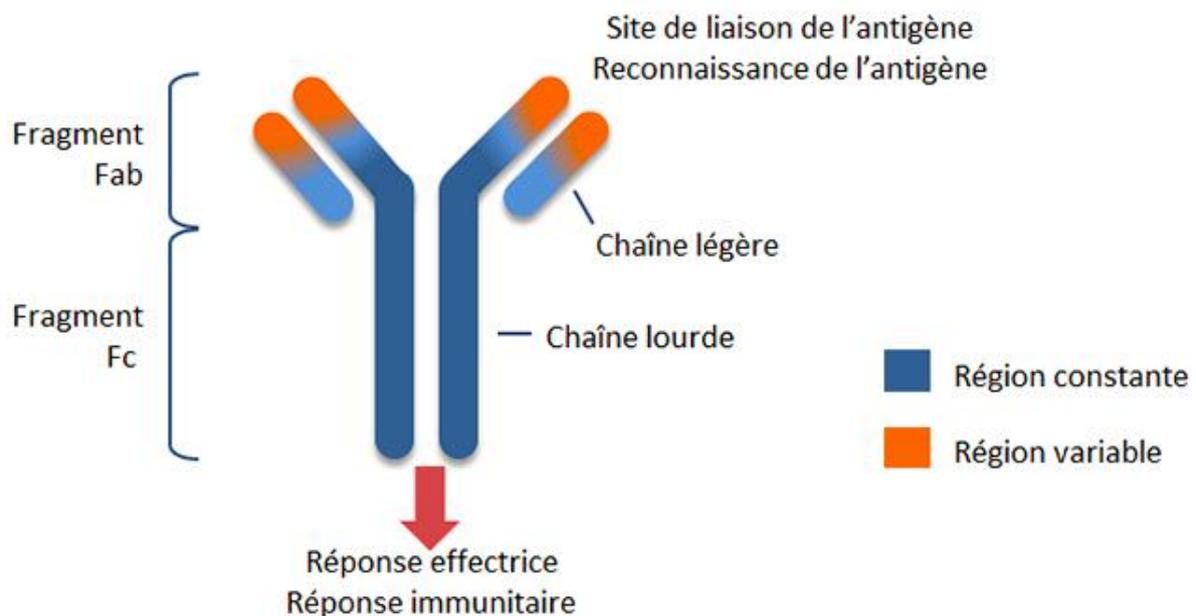


Figure 01. Structure d'une immunoglobuline. (3)

Paratope : Il s'agit de la partie de l'anticorps capable de reconnaître et de fixer l'épitope de l'antigène.

On distingue :

1.1.2.1.Des anticorps polyclonaux : c'est un mélange d'anticorps produits par des lymphocytes B différents, ils peuvent reconnaître plusieurs épitopes d'une même substance ;

1.1.2.2.Des anticorps monoclonaux : ils sont constitués d'une population de molécules homogène capables de reconnaître un seul et unique épitope, ils sont dits « mono spécifiques » car leur spécificité est beaucoup plus importante que celle des polyclonaux. (4)

1.1.3. Antigène et épitopes

Toute substance d'origine naturelle ou synthétique qui déclenche une réponse immunitaire spécifique une fois introduite dans l'organisme, et capable de réagir avec le produit de cette réaction immunitaire déclenchée est dite « antigène ».

Épitope : Il s'agit de la partie de l'antigène reconnue par l'anticorps, aussi appelée déterminant antigénique.

1.1.4. Complexe immun

C'est le produit de la réaction de l'antigène avec l'anticorps qui lui est spécifique, par combinaison de l'épitope immunogène avec le paratope de l'anticorps spécifiquement dirigé contre celui-ci.

2. Méthodes de dosage

2.1. Méthodes utilisant un marqueur

Ces méthodes immunologiques de dosage sont classées sur la base de la nécessité ou de la non-nécessité de séparer les différentes phases du milieu réactionnel, ainsi nous pouvons citer :

2.1.1. Méthodes en phase hétérogène

Cette catégorie regroupe les méthodes immunologiques nécessitant une étape préalable de séparation des formes liées et des formes libres de l'Ag. Celles-ci présentent souvent une limite de détection basse ainsi qu'un large panel d'utilisation. Néanmoins, elles demeurent coûteuses et nécessitent le recours à des équipements spécifiques. En addition à cela, ces méthodes sont peu automatisées. (5)

2.1.1.1. L'analyse radio-immunologique RIA

L'analyse radio-immunologique est un dosage immuno-chimique par compétition en un temps, effectué en comparant, les résultats de la compétition pour la liaison d'un Ag radio-marqué (Ag*) à son Ac spécifique par des Ag non marqués constituant l'analyte à doser de concentration et/ou de nature inconnues, avec ceux d'une solution étalon connue d'Ag non marqué. Le détail requis est que les deux soient traitées dans les mêmes conditions.

Le marquage dans cette analyse se fait par un radio-isotope l'iode 125 généralement, la formation du complexe [Ag-Ac] est détectée grâce à la désintégration de l'atome radioactif ; de ce fait la RIA diffère des essais biologiques classiques dans lesquels la mesure dépend uniquement de l'interaction des réactifs chimiques présents normalement dans les solutions sans préalables traitements. Il n'est pas nécessaire que l'Ag marqué et non-marqué soient identiques sur le plan chimique ou biologique ; le plus important est que leurs activités immuno-chimiques soient équivalentes (6). La méthode radio-immunologique est une technique très précise de dosage des substances (enzymes, hormones, stéroïdes, médicaments...) présentes dans divers liquides biologiques.

2.1.1.2. L'analyse immuno-enzymatique ELISA

L'Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay est une technique immuno-enzymatique de détection colorimétrique, quantitative et/ou qualitative qui permet de visualiser une réaction Ag-Ac grâce à une réaction colorée produite par l'action d'une enzyme fixée à l'Ac ou l'Ag sur un substrat. Elle permet de déterminer la nature et la proportion d'une substance même à de très faibles concentrations telles que les vitamines, les médicaments, certaines protéines comme les hormones... car elle présente un niveau de spécificité très élevé.

L'analyte devrait posséder une structure ayant au moins deux épitopes ceci constitue un inconvénient pour les molécules de faible poids moléculaire d'une part et un avantage d'autre part avec un risque d'interférence très réduit. (7)

a. ELISA direct (le conjugué est un Ac marqué à une enzyme)

La méthode ELISA directe est appropriée pour déterminer la quantité d'Ag de poids moléculaire élevé. La solution contenant l'analyte est incubée dans une plaque de surface revêtue d'un Ac préalablement marqué par une enzyme qui permet la mesure. L'incubation est suivie d'un lavage afin d'éliminer les Ag non liés du milieu. Ensuite, une autre solution contenant le substrat de la même enzyme est ajoutée au milieu pour produire un signal par l'apparition d'une coloration ; celui-ci est mesuré pour déterminer la quantité de l'Ag à doser. (7)

b. Le conjugué est un Ag marqué par une enzyme

Technique également connue sous le nom de **MEIA pour *Microplate Enzyme ImmunoAssay*** ; il s'agit d'un dosage immunologique par compétition pour la détermination quantitative d'un composé dans le sérum ou le plasma humain. L'échantillon est tout d'abord ajouté à un puits de microplaque où sont fixés des Ac spécifiques de l'Ag à doser. Le conjugué enzyme-Antigène (E-Ag) est ensuite ajouté au mélange. Une compétition se produit alors entre l'Ag de l'échantillon et le conjugué E-Ag pour un nombre limité de sites de fixation d'Ac. Une fois la période d'incubation requise terminée, le conjugué E-Ag fixé à l'Ac est séparé de celui non-fixé par aspiration ou décantation. L'activité de l'enzyme présente à la surface du puits est alors quantifiée par l'ajout d'un substrat approprié pour produire une coloration. La détection par colorimétrie permet d'établir une relation inversement proportionnelle à la quantité de l'Ag présent dans l'échantillon.

c. ELISA en sandwich

Dans cette méthode, les Ac sont fixés dans les puits de la microplaque ou sont ajoutés les échantillons ; la plaque est incubée pendant un certain temps puis lavée pour éliminer les Ag non-liés. Après l'étape de lavage, les Ac marqués spécifiques de l'Ag sont ajoutés et incubés ; ensuite un deuxième lavage est effectué, ainsi l'Ag fixé se retrouve piégé entre les deux Ac.

Afin de révéler la réaction et de quantifier l'analyte un substrat enzymatique est ajouté au milieu ; une coloration apparaît et celle-ci peut être détectée par plusieurs méthodes.

Les tests ELISA en sandwich sont 2 à 5 fois plus sensibles que tous les autres tests ELISA. (7)

2.1.1.3. Techniques de chimiluminescence

a. Chemiluminescent Microparticle Immuno-Assay (CMIA)

C'est un dosage immuno-analytique in-vitro par chimiluminescence de microparticules (CMIA) pour la mesure quantitative de l'analyte (Ag) dans le sérum ou le plasma humain en une étape par compétition entre l'Ag présent dans l'échantillon biologique et l'Ag marqué à l'Acridinium. La fixation de l'Ag à doser se fait sur des anticorps monoclonaux spécifiques formant des complexes immuns d'où résulte une réaction chimiluminescente mesurée en Unités Relatives de Lumière (URL). Il existe une relation **indirecte** (inversement proportionnelle) entre la quantité de l'analyte présent dans l'échantillon biologique et les URL détectées par le système optique de l'automate. (5)

b. L'électro-chimiluminescence ECLIA

“Electro” se réfère à la stimulation électrique, “Chimi” indique qu'il y a réaction chimique et “Luminescence” signifie production de lumière. L'ECL ou chimiluminescence électro-générée est un phénomène d'émission de lumière déclenché par une réaction électrochimique initiale. Cette réaction de transfert d'électrons se produisant directement à la surface d'une électrode induit une cascade de réactions chimiques.

L'échantillon contenant l'Ag cible est incubé avec une solution contenant deux types d'Ac spécifiques du même Ag l'un marqué à la biotine l'autre au ruthénium (Ru^{2+}) ; l'Ag se retrouvera alors piégé entre les deux Ac. Des microparticules de streptavidine sont ajoutées au mélange, celles-ci se lient au complexe immunitaire par l'interaction biotine-streptavidine. Le mélange est transféré vers la cellule de détection par un champ attirant les complexes vers l'électrode puis un tampon possédant un Co-réactif tripropylamine (TPA) est ajouté afin d'éliminer toutes les particules non fixées. La réaction est révélée par l'application d'une différence de potentiel permettant l'oxydation simultanée de la TPA et des sels de Ru^{2+} fixés

sur les Ac ; la TPA étant un radical cationique après avoir libéré son proton devient instable et cède son électron au Ru réduit conférant à celui-ci son état excité. En revenant à son état fondamental le Ru émet un photon à une longueur d'onde caractéristique. L'intensité lumineuse résultante constitue le signal analytique qui est directement proportionnel à la quantité présente de luminophores ; et il est ainsi régénéré pour une nouvelle cascade réactionnelle. Cette forme d'émission lumineuse a trouvé de nombreuses applications bio-analytiques du fait de ses caractéristiques intrinsèques remarquables, qui en font une méthode puissante et performante. En effet, aucune source lumineuse excitatrice n'est nécessaire pour induire l'ECLIA et elle ne nécessite donc pas de séparer les longueurs d'onde excitatrice et émettrice, comme pour la fluorescence. L'ECLIA est par conséquent une méthode de mesure particulièrement sensible. Elle présente une grande linéarité de signal sur plusieurs ordres de grandeur, une bonne sélectivité, une stabilité importante du luminophore. De plus, les complexes inorganiques induisant l'ECLIA peuvent être facilement conjugués à des molécules d'intérêt biologique telles que les Ac, l'ADN ou l'ARN. (8,9) (**Figure 02**)

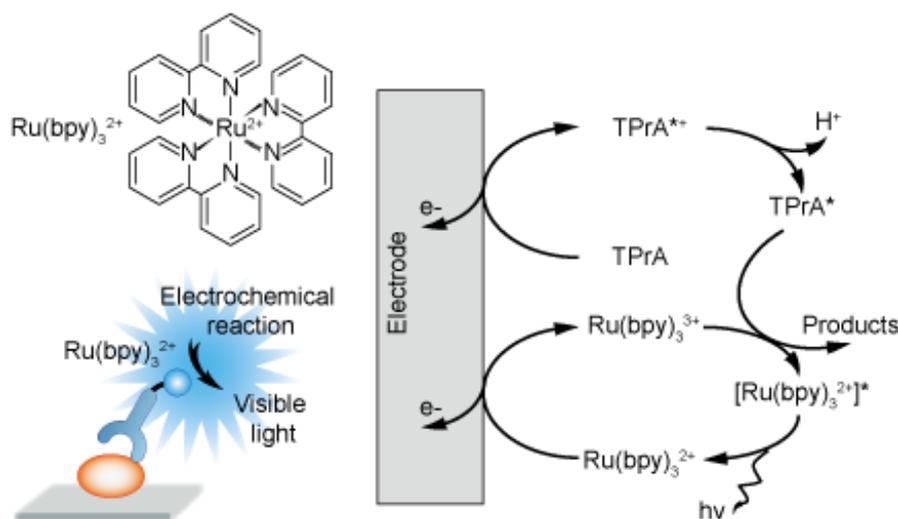


Figure 02. *ElectrochemiLuminescent ImmunoAssay* (10)

2.1.2. Les méthodes en phase homogène

Celles-ci contrairement aux précédentes ne nécessitent pas une étape de séparation :

2.1.2.1. Enzyme Multiplied Immunoassay Technic (EMIT)

Il s'agit là d'une méthode immuno-enzymatique en phase homogène par compétition entre l'Ag présent dans l'échantillon et celui marqué par la Glucose 6-phosphate déshydrogénase (G6PDH) pour occuper des sites de fixation sur des Ac spécifiques de nombre limité. La concentration de l'analyte dans l'échantillon biologique est mesurée en termes d'activité enzymatique, en cinétique, par le biais de la variation de l'absorbance à 340 nm lors de la réaction NAD/NADH. (5)

2.1.2.2. Clone Enzyme Donor Immuno Assay (CEDIA)

Dosage immunologique in-vitro par compétition utilisant la technologie de l'ADN recombinant pour produire une méthode immuno-enzymatique en phase homogène unique permettant la détermination quantitative d'une substance dans le sérum humain.

Il utilise l'enzyme bactérienne β -galactosidase scindée par génie génétique en deux fragments inactifs :

- Le fragment EA (enzyme acceptor) qui représente 90% de la β -galactosidase.
- Le fragment ED (enzyme donnor) qui représente la séquence manquante.

Ces fragments se réassocient spontanément pour former une enzyme active qui, lors de la réaction, fragmente un substrat, produisant un changement de coloration que l'on peut mesurer par spectrophotométrie. L'Ag cible contenu dans l'échantillon biologique entre en compétition avec l'Ag conjugué à un des fragments ED inactifs de la β -galactosidase pour se fixer sur les sites de liaison des Ac spécifiques. Si l'analyte est présent dans l'échantillon à doser, il se lie aux Ac spécifiques correspondants, laissant ainsi les fragments inactifs de l'ED se recombinaison avec les fragments de l'EA pour former l'enzyme active. Tandis que si celui-ci est absent, les Ac se lient alors à l'Ag conjugué au fragment inactif de l'ED, prévenant la réassociation des fragments ED et EA. Ceci bloque la formation de l'enzyme active, empêchant la réaction colorimétrique d'avoir lieu. Les concentrations de l'Ag cible dans l'échantillon sont directement proportionnelles à la quantité d'enzyme active produite, vérifiée par l'hydrolyse de son substrat donnant un produit coloré.(5)

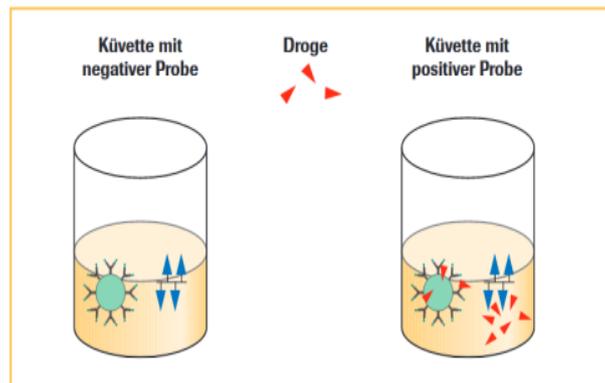
2.1.2.3. Fluorescence Polarization Immuno-Assay (FPIA)

Le dosage est basé sur la compétition entre l'Ag présent dans l'échantillon à doser et un Ag marqué à la Fluorescéine appelé "traceur" pour un nombre limité de sites d'Ac spécifiques. On utilise le principe physique qu'est la polarisation de fluorescence pour mesurer, grâce à un système de détection optique, le changement de l'angle de lumière fluorescente polarisée émise par la fluorescéine lors de la réaction, changement qui reflète la liaison du traceur à l'Ac se traduisant par une augmentation de son volume hydrodynamique.

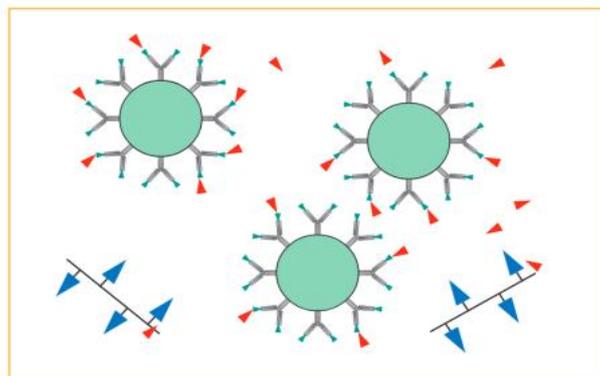
En effet, le traceur non-lié s'oriente d'une manière aléatoire entre le moment de l'absorption de l'énergie lumineuse d'excitation et celui de l'émission de la fluorescence ; la polarisation de fluorescence est par conséquent faible. Après la liaison du traceur à l'Ac spécifique, sa rotation devient la même que celle de l'Ac, c'est à dire beaucoup plus lente que celle du traceur non-lié : ainsi la polarisation de la lumière d'émission augmente à mesure que le traceur se lie à l'antisérum. La polarisation de fluorescence observée avec le traceur devient une valeur située entre celles du traceur libre et du traceur lié. Si l'échantillon contient une forte concentration de médicament, la valeur de polarisation observée sera plus proche de celle du traceur libre, donc faible. Si, à l'inverse l'échantillon contient une faible dose de médicament, la valeur de polarisation sera plus proche de celle du traceur lié, et sera donc élevée. La relation précise existant entre la polarisation et la concentration d'un médicament non-marqué est établie en mesurant les valeurs de polarisation des étalons contenant des concentrations connues de médicament. (11)

2.1.2.4. Kinetic Interaction of Microparticles in Solution (KIMS)

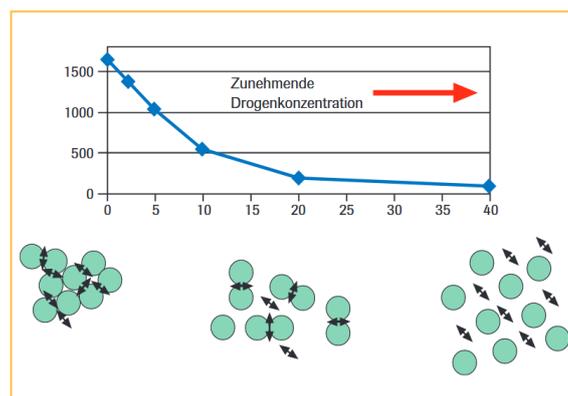
Cette technique repose sur la compétition vis-à-vis d'un anticorps spécifique de l'analyte présent dans l'échantillon avec l'Ag préalablement fixé sur des microparticules. Plusieurs Ag sont fixés sur ces microparticules. Cette association en solution ne bloque pas la transmission de lumière. En l'absence de l'analyte dans le milieu réactionnel, les molécules fixées se lient aux Ac spécifiques et forment des agrégats capables de réduire la transmission lumineuse. Plus il y a de molécules dans l'échantillon à analyser, moins il y aura d'agrégats formés, ainsi la lumière transmise sera plus importante. La concentration en molécule dans l'échantillon sera donc inversement proportionnelle à la vitesse d'augmentation de l'absorbance. (12)



Milieu réactionnel



Fixation de l'analyte sur les microparticules



Courbe de dosage

Figure 03. Kinetic Interaction of Microparticles in Solution.(13)

2.2. Méthodes sans marqueurs

Utilisées dans la plupart des tests sérologiques, elles sont basées sur la capacité d'un Ac à modifier les propriétés physiques de l'Ag sur lequel il se fixe.

2.2.1. Par agglutination

Réaction entre les Ac et les Ag, dont l'un est immobilisé à la surface de particules de latex utilisé afin d'améliorer la sensibilité et étendre le point d'équivalence. Le fluide contenant le ligand d'intérêt est introduit dans une suspension de la substance sensibilisée.

La formation d'agglutinats indique la présence du ligand dans l'échantillon. Le degré d'agglutination tracé en fonction de la concentration d'agglutinants suit une courbe en forme de cloche semblable à celle de la précipitine (Ac qui précipite en présence de son Ag). (14)
La réaction d'agglutination est d'un intérêt capital dans l'immuno-hématologie.

La révélation de la présence de l'Ag ou l'Ac cible peut se faire par plusieurs méthodes chacune a ses propres limites et son domaine d'applications ; les plus courantes étant :

2.2.1.1. Test d'agglutination directe

L'échantillon biologique est mélangé à une suspension contenant des Ac liés à des particules de latex, ces Ac étant dirigés contre l'Ag potentiellement présent dans l'échantillon. Si l'Ag est bel et bien présent dans l'échantillon, il réagira avec les Ac pour former un agglutinat. Si au contraire, il n'y a pas d'antigène dans l'échantillon, le mélange conservera son apparence comme une suspension limpide. Cette méthode est applicable à la détection d'Ag polyvalents, exemple : les protéines et les micro-organismes. (14)

2.2.1.2. Test d'agglutination indirecte

Cette méthode est généralement utilisée pour le dosage des Ac ; elle repose sur le fait que la présence de l'Ac à doser et/ou à identifier soit révélée suite à l'ajout d'un conjugué qui permettra l'agglutination.

Dans un premier temps l'échantillon est mélangé à une solution contenant des particules de latex sensibilisées par un Ag spécifique de l'Ac en question, après incubation le mélange paraîtra limpide puis, une seconde solution contenant l'Ac conjugué est ajoutée et c'est ainsi qu'il y aura l'apparition des agglutinats.

2.2.2. Par précipitation

Une réaction de précipitation est une réaction mettant en jeu des Ag solubles et des Ac spécifiques. La formation du complexe immun aboutit à la formation d'un édifice multimoléculaire qui peut dans certaines conditions précipiter en solution. (15)

Ces réactions peuvent s'observer soit :

- En milieu liquide ;
- En milieu gélifié :
 - Ouchterlony.
 - Mancini.
 - Immuno-électrophorèse IEP.
 - Immuno-fixation.
 - Immuno-transfert (Western blot).

3. Interférences analytiques en analyse immunochimique

Introduction

En dépit du fait que le dosage immunologique soit caractérisé par sa sensibilité analytique et que les mesures soient souvent effectuées sans qu'une éventuelle extraction ne soit préalablement faite, les dosages immunologiques peuvent manquer de spécificité adéquate et d'exactitude.

La spécificité dépend non seulement de la propriété de liaison de l'anticorps, mais aussi de la composition de l'échantillon en antigène ainsi que sa matrice, de la composition du réactif et du format du dosage immunologique. Les substances altérant la mesure des concentrations de l'analyte dans l'échantillon ou modifiant la liaison de l'anticorps peut potentiellement entraîner une interférence du test.

L'interférence analytique est définie comme l'effet d'une substance présente dans l'échantillon capable de modifier la valeur correcte du résultat de l'analyse. En présence d'interférences, celles-ci peuvent être dépendantes de l'analyte ou indépendantes de lui.

Les interférences indépendantes de l'analyte se renvoient aux interférences courantes comme celles dues à l'hémolyse, à la lipémie et à l'effet des anticoagulants ainsi que celles apparaissant lors du stockage des échantillons, et sont indépendantes de la concentration en

analyte. Tandis que, lors des dosages immunologiques, les interférences dépendantes de l'analyte font référence à l'interaction entre les constituants de l'échantillon avec un ou plusieurs anticorps présents dans les réactifs. Elles comprennent les composés chimiquement différents qui possèdent néanmoins des similitudes structurelles qui réagissent de manière croisée avec les anticorps, les anticorps hétérophiles, les anticorps humains anti-animaux, les anticorps anti-analytes, les facteurs rhumatoïdes et d'autres protéines.

Les interférences peuvent conduire à une fausse élévation (faux positifs) ou au contraire un faux abaissement (faux négatifs) de la concentration en analyte à doser et ceci, en fonction du site de l'interférence dans la réaction de dosage immunologique. L'interférence peut entraîner des résultats discordants pour un ou plusieurs analytes, et être détectée dans un ou plusieurs autres systèmes de l'immuno-dosage de l'analyte affecté.

L'ampleur de l'effet dépend de la concentration de la substance interférente, mais pas nécessairement de manière directement proportionnelle.

Les interférences affectent une large gamme de substances à analyser, comprenant les hormones, les marqueurs tumoraux, les médicaments, les troponines cardiaques ainsi que la sérologie microbienne. Il peut en découler une mauvaise interprétation des résultats d'un patient, qui pourrait être à l'origine d'un mauvais traitement. Par exemple, les tests de dosage de gonadotrophine chorionique humaine (hCG) peuvent donner lieu à un diagnostic erroné de grossesse ou de malignité et ainsi à la mise en place du traitement inutile d'une maladie trophoblastique non-existante. Parmi les autres séquelles cliniques de résultats erronés dus aux interférences analytiques, figurent les explorations non-nécessaires par recours aux examens de laboratoire et essais cliniques ainsi que les pharmacothérapies inutiles. La conséquence de résultats faux-négatifs et de la médication sur-dosée ultérieure du patient est un autre problème clinique grave. Il est important de reconnaître le potentiel d'interférences dans tout dosage immunologique et de mettre en place des procédures pour les identifier dans la mesure du possible. (16)

1. Types d'interférences modifiant la détectabilité de l'analyte dans l'échantillon

1.1. L'effet matrice

Nombreux paramètres peuvent influencer la réaction antigène-anticorps : le pH, la force ionique, la concentration protéique du milieu. Ces paramètres dépendent du liquide biologique

et, pour le sérum ou le plasma, du tube de prélèvement. L'effet de ces paramètres sur le résultat du dosage constitue « l'effet matrice », conséquence de la différence de composition des étalons de celle des échantillons inconnus.

Le dosage dans un liquide biologique autre que le sérum (urine, salive, liquide céphalorachidien) exige une validation particulière.

Pour les dosages urinaires, le pH est important ; des urines acidifiées en vue d'un dosage des catécholamines sont inadaptées à certains dosages du cortisol. Pour les dosages salivaires, il convient de s'assurer que les dispositifs de prélèvement, formés d'un tampon de ouate éventuellement additionné d'agents stimulant la salivation, ne modifient pas les résultats.(16)

1.2. Les facteurs pré-analytiques

La liaison des cations présents dans le sérum, par exemple : Mg^{2+} ou Ca^{2+} , à des médicaments ou à des protéines peut modifier la conformation de l'antigène et la concentration en analyte mesurable. Le type d'échantillon peut affecter la concentration en analyte avec des différences de résultats pour les échantillons prélevés dans de l'héparine de lithium, l'EDTA et le fluorure de sodium/oxalate de potassium ou dans des tubes sans anticoagulant pour certains analytes.

Un certain type d'échantillon et un traitement ou stockage d'échantillons inappropriés peuvent en modifier les propriétés au fil du temps et ainsi affecter les résultats

L'augmentation de la concentration d'EDTA dans le mélange échantillon-réactif en raison d'un volume d'échantillon insuffisant provoque la chélation des ions Mg^{2+} et de Zn^{2+} et peut affecter l'activité de la phosphatase alcaline ; marqueur enzymatique utilisé dans les dosages de chimiluminescence. Le masquage physique de l'anticorps par des lipides et huiles de silicone présentes dans certains dispositifs ou tubes de collecte de sang, ou par la fibrine dans les échantillons de plasma, peut physiquement interférer avec la liaison Ag-Ac.(1)

1.3. La spécificité

L'anticorps d'un dosage peut, en plus de l'analyte contre lequel il a été dirigé, reconnaître une molécule de structure voisine ou contenant un épitope semblable à celui porté par l'analyte. Les problèmes liés à ce défaut de spécificité (réaction croisée) sont plus fréquents que ceux liés à un excès de spécificité.

1.3.1. Interférences positives

Au cours des dosages par compétition, des réactions croisées dues à des précurseurs ou métabolites hormonaux ou à des médicaments sont à l'origine de plusieurs interférences positives. En déterminant le pourcentage de réactions croisées, celles-ci peuvent être évaluées. En pratique, cette estimation est imparfaite, particulièrement pour les médicaments pour lesquels de nombreux métabolites, parfois non-identifiés, peuvent interférer.

La nécessité de reconnaissance par les anticorps du dosage de deux épitopes de l'analyte et le recours très fréquent à des anticorps monoclonaux, impliquent que les dosages immuno-métriques soient plus spécifiques. Cependant, des interférences positives surviennent également au cours de ces dosages.

1.3.2. Interférences négatives

Très exceptionnellement, des réactions croisées peuvent être à l'origine d'une interférence négative au cours d'un dosage par compétition. Tandis qu'avec les dosages immuno-métriques, une interférence négative peut se produire lorsque la molécule interférente ne réagit qu'avec un des deux anticorps mis en jeu dans la réaction « sandwich ». Les sites d'Ac occupés par la molécule interférente ne sont ainsi, plus disponibles pour l'analyte et le nombre de sandwichs formés se trouve être diminué. La survenue de cette interférence est rare, étant donné la présence en large excès des anticorps de dosage.

Certains dosages immuno-métriques, utilisant un couple d'anticorps monoclonaux très sélectifs, peuvent présenter un excès de spécificité capable de causer une interférence négative. Ce phénomène, qui n'est pas une réaction croisée, ni même une interférence à proprement parler, a pu conduire dans le passé à la non-reconnaissance de certaines iso-formes physiologiques des hormones glyco-protéiques hypophysaires. Toutefois, une meilleure sélection du couple d'anticorps a permis d'y remédier.(16)

1.4. Les protéines de liaison aux hormones

Les globulines se liant aux hormones peuvent modifier la concentration mesurable de l'analyte dans l'échantillon, soit en l'éliminant, soit en le bloquant.

Pour exemple, les stéroïdes peuvent se lier à la globuline se liant aux hormones sexuelles ou au cortisol et entraîner une diminution de la concentration en analyte libre.

Le déplacement de l'analyte des protéines endogènes de liaison aux hormones, par exemple la thyroxine libre (FT4) déplacée de la globuline de liaison aux hormones thyroïdiennes par des

acides gras libres (AGL) non-estérifiés, peut altérer l'équilibre du test et ainsi diminuer ou augmenter la concentration en analyte.

Ces AGL peuvent être générés in-vitro dans des échantillons non-congelés de patients traités par l'Héparine, suite à l'induction de l'activité de la lipase induite par l'héparine. Une augmentation des taux sériques de triglycérides peut accentuer ce problème.(1)

1.5. Les interférences d'anticorps

1.5.1. Anticorps hétérophiles

Les anticorps endogènes interférents sont plus généralement dits « anticorps hétérophiles » lorsque l'agent immunogène n'est pas clairement identifié et qu'ils réagissent avec des immunoglobulines de plusieurs espèces animales (anticorps poly-spécifiques ou multi-spécifiques). Ils sont composés d'anticorps naturels et d'auto-anticorps poly-réactifs contre des antigènes hétérogènes, mal définis et présentent généralement une faible affinité et une faible liaison. Ils interfèrent avec les immuno-dosages par un mécanisme non-compétitif et peuvent se lier au conjugué, à l'enzyme ou à d'autres parties du système de détection dans les essais limités en réactifs. Certains sérums contiennent des anticorps humains anti-isotypes ou anti-idiotypes, IgG ou IgM dirigés contre des immunoglobulines animales qui peuvent réagir avec les anticorps des immuno-dosages. Ces anticorps interférents sont propres à un sujet donné. Leur concentration peut rester stable dans le temps ou varier chez un même individu suite à une immunisation, une infection, une transfusion sanguine ou une transmission materno-fœtale. Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens ainsi que le facteur rhumatoïde (FR) poly-spécifique et naturel ou auto-immun, sont à l'origine de la plupart des interférences hétérophiles. Les anticorps naturels sont détectés dans le sérum de patients atteints de maladies auto-immunes, syndrome de Sjögren et lupus, mais aussi hors de contextes auto-immuns forts. Les anticorps naturels idiotypiques (anti-id) sont des anticorps produits par un idiotype qui peut lier d'autres anticorps. Ils peuvent affecter la liaison de l'antigène à l'anticorps en se liant à l'antigène et en affectant la concentration de l'analyte, ou en imitant la liaison de l'antigène en raison d'une similitude de structures.

Les tests utilisant des anticorps polyclonaux ou monoclonaux peuvent être affectés et un même anticorps hétérophile peut réagir différemment pour différentes combinaisons d'anticorps, ce qui donne un résultat faussement élevé dans un essai, mais un résultat inférieur dans un autre.(16)

1.5.2. Anticorps Humains Anti-animaux AHAA

Lorsque les anticorps endogènes interférents sont de forte affinité et spécifiques d'une espèce animale, on parle alors d'anticorps anti-animal. Dans ce cas précis, l'agent immunogène est généralement connu : protéine animale, vaccin à base de produits animaux ou anticorps murins générés par une immunothérapie ou une immuno-scintigraphie. Les anticorps humains anti-animaux sont des anticorps polyclonaux spécifiques à haute affinité, produits contre une immunoglobuline animale spécifique et entière de type IgG ou IgM. Ils présentent une forte affinité de liaison avec les antigènes de même composition chimique et sont produits à un titre élevé. Les AHAA sont le plus souvent des anticorps humains anti-souris AHAS (« *human anti-mouse antibodies* ou *HAMA* »), mais ils comprennent également des anticorps dirigés contre les rats, les lapins, les chèvres, les moutons, les bovins, etc.

Ils sont présents dans 30 à 40 % des échantillons de patients et un grand nombre d'exemples documentent au sujet d'anticorps circulants produits contre les immunoglobulines animales, ceux contre les immunoglobulines de souris, de lapin et de chèvre étant importants car ces animaux sont utilisés pour produire des réactifs d'immuno-dosages. Les anticorps de souris sont particulièrement répandus dans le sérum des travailleurs en contact avec les animaux, des patients sous anticorps monoclonaux pour le traitement ou l'imagerie, et d'autres exposés à des souris. L'interaction avec les anticorps de capture et de détection forme un complexe Ag-Ac qui se comporte immuno-chimiquement de la même manière que le complexe analyte-Ac et donne ainsi des résultats faux positifs. Des résultats faussement négatifs peuvent également se produire lors des tests immuno-métriques à deux sites d'analyse, probablement en raison de la réaction de l'AHAS avec l'un des anticorps et de la non-réaction avec l'analyte.

Les méthodes qui n'utilisent qu'un seul anticorps monoclonal de souris dans les tests IMA sont moins sujettes aux interférences dues aux AHAS. L'interférence causée par les anticorps anti-animaux peut être éliminée par un prétraitement de l'échantillon ou une nouvelle conception du dosage.

1.5.3. Anticorps anti-analyte, antihormone

Des auto-anticorps ont été décrits et peuvent provoquer des interférences dans les méthodes de dosage non-immunologiques et immunologiques pour un certain nombre d'analytes, notamment les macro-enzymes, les hormones thyroïdiennes, la thyroglobuline, l'insuline, la prolactine et la testostérone. Des valeurs faussement positives ou faussement négatives peuvent apparaître, dépendant de la déformation du complexe auto-anticorps-analyte en

fraction d'analyte libre ou liée. Que le dosage immunologique soit limité ou excédentaire, des auto-anticorps peuvent provoquer des interférences dans les deux formats.

Des anticorps dirigés contre l'analyte sont retrouvés dans le sérum de sujets présentant une pathologie auto-immune (auto-anticorps anti-Thyroglobuline et pathologie thyroïdienne, anti-insuline et prédiabète, anti-Gastrine et anémie pernicieuse) ou dans le sérum de patients traités (hétéro-anticorps anti-insuline des patients sous insuline). Dans d'autres cas, l'étiologie reste inconnue : anticorps anti-prolactine, anti-PTH.

En présence d'anticorps anti-analyte, l'analyte dans le sérum se trouve sous forme libre et sous forme liée et l'ensemble de ces formes constitue la forme totale. Dans un dosage immuno-métrique, le couple d'anticorps du dosage reconnaît l'analyte libre et, au moins partiellement l'analyte lié. La concentration mesurée est en général intermédiaire entre la concentration libre et la concentration totale. Si le but du dosage est de mesurer la concentration de la forme libre (dosage d'une hormone dont seule la fraction libre est active) l'interférence observée est positive. Si le but du dosage est de mesurer la concentration totale, (recherche d'un marqueur présent sous forme libre ou liée), l'interférence est négative. Dans la majorité des cas, cette interférence est positive. (1)

1.6. Effet crochet à forte dose d'antigène ou *High-dose Hook effect*

Dans les systèmes IMA où la plage de concentration de l'analyte est large, les réactions antigène-anticorps peuvent aller vers un excès de l'antigène et entraîner de faux résultats négatifs, pour exemple les dosages de la Ferritine, de l'hormone de croissance GH, de la bêta-hCG, la prolactine, la thyroglobuline Tg, et peuvent conduire à un mauvais diagnostic.

En effet, dans ces cas, l'excès d'Ag présent dans le milieu réactionnel sature à la fois, l'Ac de capture et l'Ac marqué, ce qui empêche la formation des complexes sandwichs. (**Figure 04**)

Il en résulte une décroissance de la quantité d'Ac marqués liée à la phase solide. Ceci concerne particulièrement, en ce qui concerne les IMA à deux sites dans lesquels l'Ac de capture et l'Ac de détection sont ajoutés simultanément, l'analyte libre et l'analyte lié à l'anticorps marqué entrent ainsi en concurrence pour un nombre limité de sites de liaison aux anticorps et en présence d'une concentration plus élevée de l'analyte, la valeur du marquage lié à la phase solide diminue plutôt qu'augmente. L'effet crochet à forte dose peut être évité en modifiant le rapport antigène/anticorps réactif de l'échantillon, soit par reformulation du dosage, soit par dilution de l'échantillon. Par exemple, une concentration en prolactine de 1500 a augmenté à 950 000 mU/L lorsque les dilutions de l'échantillon ont été analysées. Pour

de détecter un effet crochet à dose élevée dans les dosages à Tg, il est recommandé que les échantillons soient analysés non-dilués et dans une solution de dilution 1/10.(16) (**Figure 05**)

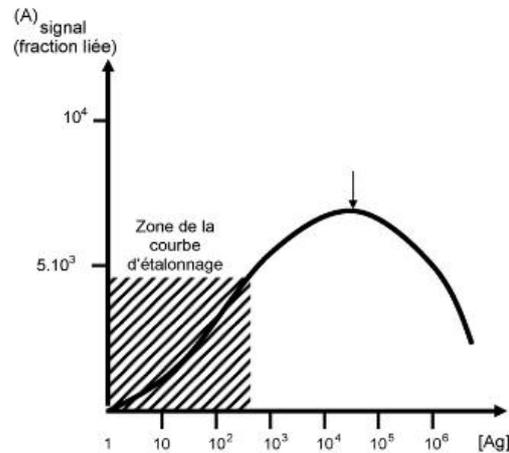


Figure 04. Courbe illustrant l'effet crochet survenant lors d'un excès d'Ag. (16)

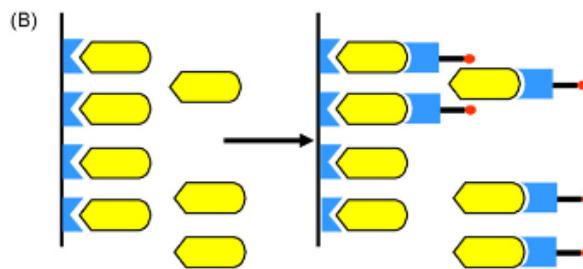


Figure 05. Mécanisme du *High-dose hook-effect*.(16)

1.7. Autres protéines

Le complément, le lysozyme et les para-protéines sont d'autres protéines capables d'affecter la liaison des anticorps et peuvent ainsi interférer dans les immuno-dosages.

La liaison d'une para-protéine IgG kappa à un anticorps de la TSH peut avoir bloqué par encombrement stérique, la liaison de la TSH et conduit à une valeur faussement faible en TSH. Le complément interfère en se liant au fragment Fc de l'immunoglobuline et peut bloquer les sites de liaison spécifiques de l'analyte sur un anticorps. Ceci inhibe la liaison de l'antigène marqué et de l'antigène non-marqué. Le lysozyme se lie également aux immunoglobulines et peut former un pont entre les IgG en phase solide et les anticorps de détection.(1)

2. Minimisation des interférences d'anticorps dans les immuno-dosages

Les méthodes de réduction des interférences dues aux anticorps hétérophiles et anticorps anti-animaux dans les immuno-dosages comprennent des moyens d'éliminer ou de bloquer l'anticorps interférent. Il est possible d'éliminer les anticorps potentiellement interférents :

- Par extraction préalable de l'analyte de l'échantillon, p. ex. par chromatographie sur gel.
- Par immuno-extraction par l'addition de :
 - Murine ou d'autres espèces sériques animales immobilisées sur des billes de Sépharose.
 - Suspension de protéine A immobilisée.
- Par précipitation par le polyéthylène glycol (PEG 6000).
- Par chauffage à 70-90°C (uniquement pour les analytes thermostables)

Ces interférences peuvent également être éliminées par ajout d'un agent bloquant de la même espèce que les réactifs anticorps tels que les réactifs hétérophiles bloquants (*Heterophile blocking reagents* HBR), les réactifs inhibiteurs d'immunoglobulines (*immunoglobulin inhibiting reagent* IIR) ; le réactif bloquant peut être inclus dans le diluant du test ou un prétraitement de l'échantillon avec un bloqueur supplémentaire est possible. La détermination de la quantité exacte d'inhibiteur suffisante pour éliminer l'interférence dans tous les échantillons de patients est difficile à déterminer en pratique, car la réponse immunitaire aux anticorps interférents est très variable d'une personne à l'autre. L'efficacité du réactif ajouté pour bloquer l'interférence dépend de l'espèce et de la sous-classe de l'agent bloquant. Le sérum non-immunisé, les IgG polyclonales spécifiques d'une espèce, les IgG anti-IgG humaines ou les IgG polymérisées de souris, les monoclonaux non-immunisés de souris ou les fragments spécifiques d'une espèce d'IgG [Fc, Fab, F(ab')₂] des mêmes espèces utilisées pour produire les anticorps réactifs sont couramment utilisés comme agents bloquants par les fabricants des tests en kit. Toutefois, dans certains cas, l'ajout d'un ou de plusieurs de ces agents bloquants dans les réactifs d'immuno-dosages par les fabricants est insuffisant ou ne permet pas de prévenir les interférences.(16)

3. Incidence de l'interférence dans les essais immunologiques

La prévalence de l'interférence dans les essais immunologiques est variable et dépend du type d'interférence des anticorps. Elle peut varier de 0,05 % pour l'interférence par des anticorps hétérophiles et des AHAS à ≥ 6 % en fonction du dosage et de l'analyte. Environ 40 % des échantillons de sérum contiennent des substances de liaison aux anticorps non-assimilable à l'analyte, avec 15 % d'interférence dans les essais non-bloqués. (16) Ward et al. ont identifié 7 des 21 000 échantillons provenant d'une population hospitalière présentant des interférences hétérophiles et AHAS, l'interférence étant aussi faible que 0,03% dans les IMA à un seul site. Toutefois, l'ajout d'agents bloquants ne garantit pas l'élimination de ces interférences. Bien que l'interférence des dosages immunologiques ait été initialement signalée dans les années 1970, le problème persiste aujourd'hui avec l'interférence des anticorps hétérophiles fréquemment détectée pour de nouveaux immuno-dosages testés sur le terrain. Preissner et al. ont récemment rapporté un taux élevé d'interférence dues à des anticorps hétérophiles d'une valeur supérieure à $> 1,5\%$ pour un nouveau test de dosage de la Tg. L'étendue des dosages immunologiques affectés par ces interférences a été mise en évidence dans une enquête multicentrique portant sur les résultats erronés d'immuno-dosages effectués sur 74 analytes chez 10 donneurs par 66 laboratoires dans sept pays. Environ 6 % des analyses ont fourni des résultats faussement positifs avec la possibilité d'une interprétation clinique erronée. De ces analyses, 1,8 % (n=65) des résultats impliquant 13 analytes ont été jugés faussement positifs par interférences hétérophiles, tandis que 4,2 % (n = 146) des résultats impliquant 17 analytes ont donné des faux positifs d'étiologie incertaine qui n'ont pas été rétablis dans l'intervalle de référence à la suite de l'addition de réactif bloquant hétérophile.

3.1. Propriétés des substances interférant avec les anticorps

Les substances interférant avec les anticorps dans les immuno-dosages ont plusieurs propriétés en commun ; notamment leur caractère unique au sein d'une même personne et la capacité de leur concentration à changer au fil du temps chez un même individu en raison, par exemple, d'une infection, d'une immunisation, d'une transfusion sanguine, ou de demeurer permanente, par exemple, à cause d'une maladie auto-immune, d'un contact avec des animaux ou de l'ingestion de produits alimentaires d'origine animale. Des résultats faussement positifs ou au contraire, faussement négatifs peuvent résulter d'interférences aux anticorps par rapport aux contrôles de qualité, qui n'en sont pas affectés. Les substances interférant avec les

anticorps peuvent être dépendantes du dosage immunologique et interférer au sein d'un ou de plusieurs systèmes de l'immuno-dosage du laboratoire, ou elles peuvent interférer dans un certain nombre de dosages immunologiques pour différents analytes. Comme la source d'anticorps est différente d'un dosage à l'autre, elle peut être affectée à des degrés divers par des substances interférentes. Comme ces substances interférentes varient d'un patient à l'autre et que leur concentration peut changer en fonction du temps chez un même patient, elles peuvent être difficiles à détecter et donc à éviter. Covinsky et al. ont montré les effets multiples sur de nombreux tests d'un anticorps interférent chez un patient atteint de septicémie à *Escherichia coli* (*E. coli*) et la variation de l'interférence avec le temps chez ce patient. La troponine cardiaque I (Tn I), mesurée par le test Dade Behring Dimension-RxL IMA, est passée de 8,7 µg/L au troisième (3^{ème}) jour jusqu'à 220 µg/L le septième (7^{ème}) jour à la suite de l'admission du patient pour une infection du tractus urinaire. Ce résultat a été obtenu en dépit de tout signe de défaillance cardiaque et d'une TnI inférieure à 0,4 µg/L selon le test Dade Behring Stratus II. L'incubation de l'échantillon avec l'isolat d'*E.coli* du patient a largement éliminé cette interférence. Un anticorps IgM λ, identifié sur l'électrophorèse d'immuno-fixation et produit en réponse à l'infection à *E. coli*, a causé les valeurs faussement augmentées dans les divers IMA à deux sites. (16)

4. Détection et contrôle des interférences dans les échantillons suspects

Des processus pour sensibiliser les laboratoires et les médecins à la possibilité d'interférence dans les dosages immunologiques doivent être mis en place et inclure l'éducation continue, l'examen des résultats des patients en milieu clinique, les protocoles de vérification des interférences soupçonnées ainsi que la notification des interférences tant au médecin qu'au fabricant du produit diagnostique. En effet, la survenue d'interférences en recherche clinique, peut également conduire à la publication dans la littérature scientifique de conclusions erronées. Afin de minimiser le signalement de résultats faussement positifs ou faussement négatifs, un dialogue constant est nécessaire entre le médecin et le laboratoire. En général, les médecins ne fournissent pas suffisamment de détails cliniques et doivent être informés des limites des tests, y compris des interférences possibles, le laboratoire doit également obtenir les renseignements nécessaires au sujet de la clinique et d'éventuelles prises médicamenteuses ainsi que la probabilité d'exposition du patient à des animaux ou à des agents diagnostiques ou thérapeutiques anti-animaux. Si l'on soupçonne l'existence d'un résultat incohérent, diverses procédures peuvent être mises en œuvre pour vérifier la présence d'interférence. Celles-ci

comprennent l'analyse de l'échantillon à l'aide d'un autre test qui, si possible, utilise un antisérum qui est porté à une espèce différente et qui donne normalement un accord entre les méthodes. Si par exemple, l'interférence est due à l'immunoglobuline de souris, d'autres dosages ne devraient pas utiliser d'anticorps monoclonaux de souris car le dosage pourrait se voir être inexact. Si un résultat significativement différent est détecté entre les méthodes, il y a risque d'interférence. (16) L'hypothèse selon laquelle un résultat est correct parce que la majorité des méthodes des dosages immunologiques donnent des valeurs similaires s'est révélée invalide dans l'étude multicentrique de Marks dans laquelle neuf des onze systèmes de dosages LH et FSH étaient en accord mais ont donné des résultats faussement abaissés pour une femme post-ménopausée de 72 ans qui était positive pour le FR. Une autre procédure de détection et d'identification d'un anticorps interférent présumé est la mesure avant et après l'ajout d'un réactif bloquant à l'échantillon et l'obtention d'un résultat sensiblement différent. Si l'interférence suspectée n'a pas été réduite par l'ajout d'un plus grand nombre d'agents bloquants, il est recommandé d'ajouter une série de concentrations de l'agent bloquant ou une combinaison d'agents bloquants provenant de différentes sources animales, allant de très faible à concentration très élevée. Cela évitera soit de trop peu bloquer, soit de forcer la réaction vers un excès de l'antigène. (1)

CHAPITRE II :

LA DIGOXINE

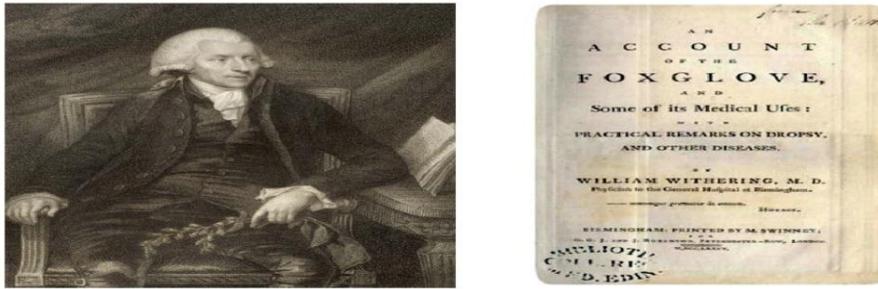
Introduction

Les digitaliques ou glucosides cardiotoniques sont des substances à élimination rapide d'origine végétale. Ce sont des agents inotropes positifs utilisés depuis très longtemps dans le traitement de certaines cardiopathies, d'abord employés pour leurs propriétés diurétiques, aujourd'hui, ils sont prescrits au cours de l'insuffisance cardiaque congestive à bas débit et des troubles du rythme supra-ventriculaire. Actuellement, leur unique représentant sur le marché du médicament est la digoxine. L'effet de cette molécule dans le traitement de l'insuffisance cardiaque est lié d'une part, à son action directe sur le muscle cardiaque et sur le système nerveux et d'autre part, à son action indirecte sur le système cardiovasculaire, et ce par l'intermédiaire du système sympathique et parasympathique. Il en découle un effet inotrope positif, effet de contrôle de la fréquence ventriculaire dans la fibrillation auriculaire ainsi qu'une action natriurétique, ce qui contribue à son efficacité. Le fait que cette molécule ait un faible index thérapeutique et qu'elle soit rapidement éliminée de l'organisme implique qu'une surveillance clinique et biologique régulière par suivi thérapeutique pharmacologique soit nécessaire, avec un risque important d'effets secondaires, d'interactions médicamenteuses, ou encore d'intoxication. (17,18)

1. Historique

En 1542, Leonhart Fuchs (1501 - 1566), médecin et botaniste allemand publie « De historia stirpium commentarii insignes » ou Histoire de plantes de notification notable où figure la première description connue de la digitale pourpre (*Digitalis purpurea* L.). (19)

En 1775, l'avis de William Withering (1741 - 1799), médecin et botaniste britannique fut demandé au profit d'une famille afin de soigner l'hydropisie. Il eut vent d'un traitement secret longtemps conservé par une vieille femme de la région du Shropshire en Angleterre, qui aurait réussi à soigner cette pathologie, là où plusieurs praticiens reconnus ont échoué. Parmi la vingtaine de plantes qui compose la décoction, il découvre que le principe actif est issu de la digitale pourpre (*Digitalis purpurea*). Pendant 9 ans, il réalise des préparations à base de différentes parties de la plante, récoltées à différentes saisons et en étudie les effets après administration à des patients souffrant d'œdèmes d'origine cardiaque présumée. Il publie en 1785 le résultat de ses travaux dans "An account of the foxglove and some of its medical uses ; with practical remarks on the dropsy, and some other diseases" littéralement ; Un compte rendu de la digitale et de certaines de ses utilisations médicales ; avec des remarques pratiques sur l'hydropisie et quelques autres maladies. (20) (**Figure 06**)



William Withering et son ouvrage
Source : <<http://de.academic.ru/dic.nsf/dewiki/1515848>>

Figure 06. William Whithering et son ouvrage. (21)

En 1799, John Ferriar (1761 - 1815) dans son ouvrage « *An Essay on the Medical Properties of the Digitalis Purpurea, or Foxglove* » littéralement, Essai sur les propriétés médicales de Digitalis Purpurea ou Digitale, est le premier à mettre à l'honneur l'action cardiaque de la digitale comme principale propriété.

En 1835, la Société Française de Pharmacie mit au concours la recherche du principe actif de la digitale, mais en vain. Cette question sera remise quatre fois au concours, pour qu'enfin le prix soit remporté par M. Homolle et M. Quevenne (médecin et pharmacien français) en Décembre 1844 pour leur « Mémoire sur la digitaline et la digitale ».

En 1868, Claudec Adolphe Nativelle (1812 - 1889), pharmacien français, isole la digitaline cristallisée, ce qui lui vaudra le prix Orfila de l'académie de médecine en 1872. (22,23)

Actuellement, la digoxine est le seul digitalique commercialisé, malgré son utilisation dans le traitement de diverses affections du cœur, son indication tend aujourd'hui à se restreindre. (17)

2. Origine de la digoxine

La digoxine est un glycoside cardiotonique dérivé de la digitaline. Elle fait partie de la classe des digitaliques. (24)

Les digitaliques cardiotoniques ont une origine exclusivement végétale, principalement extraits de deux plantes :

- La digitale pourpre (*Digitalis purpurea L.*)
- La digitale laineuse (*Digitalis lanata*)

2.1. La digitale pourpre (*Digitalis purpurea* L.)

Digitale pourpre, également connue sous d'autres appellations : grande digitale, digitale pourprée, doigtier, gants de bergère, gants de sorcière, gants de notre dame, gantelée, gantière ; appartient à la famille des scrofulariacées.

Cette plante se décrit comme une herbacée de 60 à 180 cm de hauteur. Elle est facilement distinguable, notamment par sa tige florale dressée qui porte sur toute sa longueur, des clochettes pendantes, à la forme caractéristique en doigt de gant (d'où son nom), colorées en pourpre et marquées de taches rouges sur fond blanc. La taille des fleurs se réduisant vers le sommet donne à la tige florale l'allure d'une fusée. Les feuilles sont larges, duveteuses sur la face inférieure qui présente des nervures marquées, au goût amer et dissuasif (**Figure 07**).

Sa particularité fait d'elle une plante bisannuelle, son cycle est de deux ans, avec à la première année ; la production d'une rosette de feuilles qui tend à disparaître l'hiver venu. C'est seulement à la seconde année qu'apparaissent les fleurs. (25)

Originnaire d'Europe ou elle est très présente (Europe occidentale et Europe centrale), on la retrouve également au Portugal et en Sardaigne et jusqu'au sud de la Suède. Toutefois, elle tend à se raréfier sur le pourtour méditerranéen. Elle est implantée dans divers pays de latitudes identiques.



Figure 07. *Digitalis purpurea* L. (26)

Elle pousse sur des sols siliceux, humides et mi-ombragés pour s'étendre en colonies sur les bords des routes, les clairières et les champs en friche. (23)

Toute la plante est active, cependant ; seule la feuille est officinale (drogue). Celle-ci doit avoir une faible teneur en eau car les principes y actifs sont fragiles. (27)

2.2. La digitale laineuse (*Digitalis lanata*)

La digitale laineuse se distingue de la digitale pourpre par son aspect plus duveteux. (28)

Appartenant elle aussi, à la famille des scrofulariacées, cette plante herbacée vivace est originaire de l'Europe centrale, cultivée partout en Europe ainsi qu'aux Etats-Unis. (29) (**Figure 08**).



Figure 08. *Digitalis lanata*. (30)

3. Structure de la digoxine

Les glycosides cardiaques sont classés en groupes et possèdent tous un noyau stéroïde commun substitué par un ou plusieurs résidus glycosides en C3, d'où leur autre dénomination : glycosides cardiaques ou glycosides digitaliques.

Le groupe majeur est celui pour lequel la génine est la digoxigénine (3 β , 12 β , 14 β trihydroxylée)

L'hétéroside primaire est le lanatoside C, tandis que l'hétéroside secondaire est l'acetyl-digoxine dont l'hydrolyse alcaline conduit à la digoxine. (31)

La digoxine est donc constituée de l'agencement de la digoxi-génine et de trois molécules de digitoxose. (**Figure 09**)

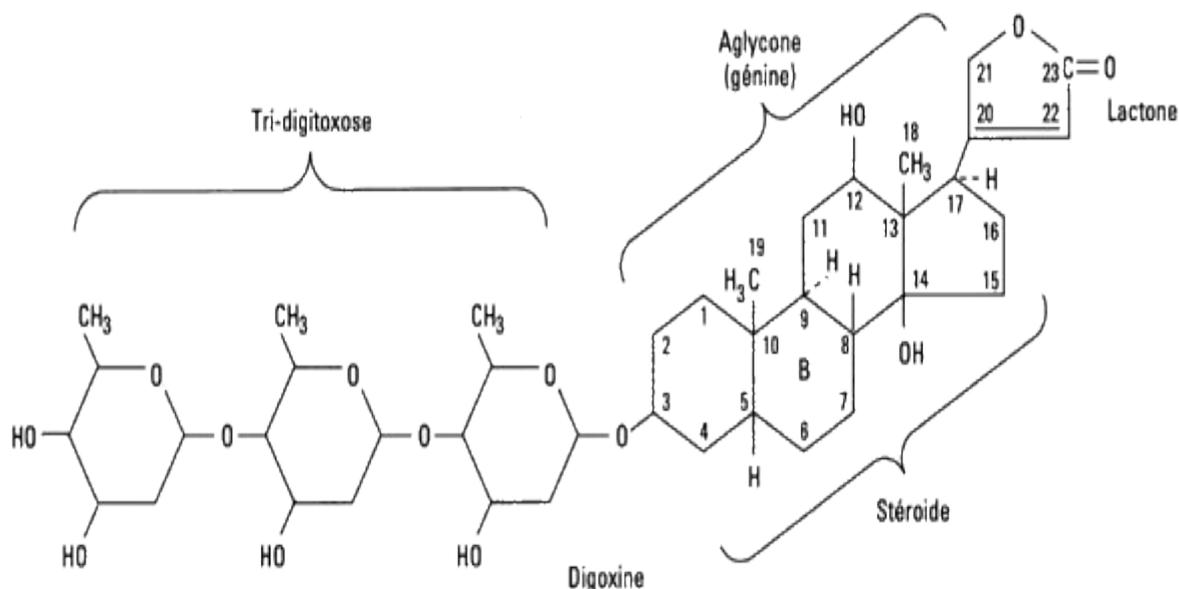


Figure 09. Structure moléculaire de la digoxine. (31)

3.1. Relation structure-activité

La chaîne glucidique n'est pas directement responsable de l'activité pharmacodynamique, toutefois, elle possède une influence sur la pharmacocinétique de la molécule.

La biodisponibilité de la molécule est liée au nombre de groupements hydroxyle (OH) et les différences pharmacocinétiques sont en fonction du nombre et de la localisation de ces groupements sur la génine : plus leur nombre est élevé, plus la polarité de la molécule est forte et donc sa liposolubilité en est faible.

La présence d'un groupement (OH) en C14 est nécessaire à l'activité cardiotonique.

La lactone insaturée en C17 joue un rôle important dans la liaison aux récepteurs ; une fois saturée, l'activité de la molécule se voit considérablement réduite. (28,32)

4. Formes galéniques et posologies

Les différentes formes galéniques ainsi que les posologies de la digoxine sont résumées dans le tableau I.

Tableau I. Les différentes formes galéniques et les posologies de la digoxine. (33)

Molécule	Formes galéniques et dosages	Posologies
Digoxine	<ul style="list-style-type: none"> - Forme orale : <ul style="list-style-type: none"> • Cp/cp. sec. 0.25mg • Cp 0.125mg • Sol. buv 0.05mg/mg - Forme injectable : <ul style="list-style-type: none"> • Sol. inj. IV 0.5mg/2ml 	Traitement d'entretien : <ul style="list-style-type: none"> - Chez l'adulte : 0,25 mg/j - Sujet âgé : 0,125 mg/j - Enfant : 7 à 10 ug/kg/ 2 ou 3x/j - Nouveau-né : 15 ug/kg 2 ou 3x/j Traitement d'attaque par voie intraveineuse : 1 à 2ampoules (0,50 mg/jour)

(Les formes et dosages sont donnés selon la liste des produits pharmaceutiques enregistrés de 1996 à décembre 2011 établie par le ministère de la sante de la population et de la réforme hospitalière)

5. Pharmacocinétique

5.1. Absorption

Estimée à 70%, l'absorption de la digoxine est essentiellement digestive et s'effectue dans le duodénum et dans le jéjunum par un mécanisme de diffusion passive qui est conditionné par la liposolubilité de celle-ci. Elle fait intervenir des transporteurs membranaires, principalement la P-gp qui pourrait contribuer aux interactions médicamenteuses. (17,34)

5.2. Distribution

La digoxine est principalement présente sous forme libre dans le sang, non liée aux protéines plasmatiques (80%), seulement 20 à 25 % sont fixés à l'albumine ce qui explique sa rapidité d'action. Son activité débute après 10 à 30 minutes en cas d'administration par voie veineuse, et 1 à 2 heures per os. Le principal réservoir tissulaire est le muscle squelettique, avec un large volume de distribution ($V_d = 5L/kg$) expliquant la mauvaise efficacité de l'hémodialyse en cas d'intoxication. (17,34)

La digoxine traverse la barrière hémato-encéphalique, ce qui explique la possibilité d'effets indésirables neuropsychiques lors d'un éventuel surdosage. Elle traverse la barrière fœto-placentaire et une faible fraction passe dans le lait maternel. (35)

5.3. Métabolisme

Environ 10 % sont métabolisés au niveau hépatique, toutefois, la proportion de formes métabolisées peut être plus importante et peut aller jusqu'à 55% du fait de la biotransformation de la digoxine par l'*eubacterium lentum*, constituant habituel de la flore intestinale, expliquant la résistance de certains patients au traitement ; la digoxine est ainsi hydrolysée en digoxi-génine et en bis et mono-digitoxose qui ont tous une activité pharmacologique, mais aussi réduite en digoxi-génine relativement inactive. (17,36) (Figure 10)

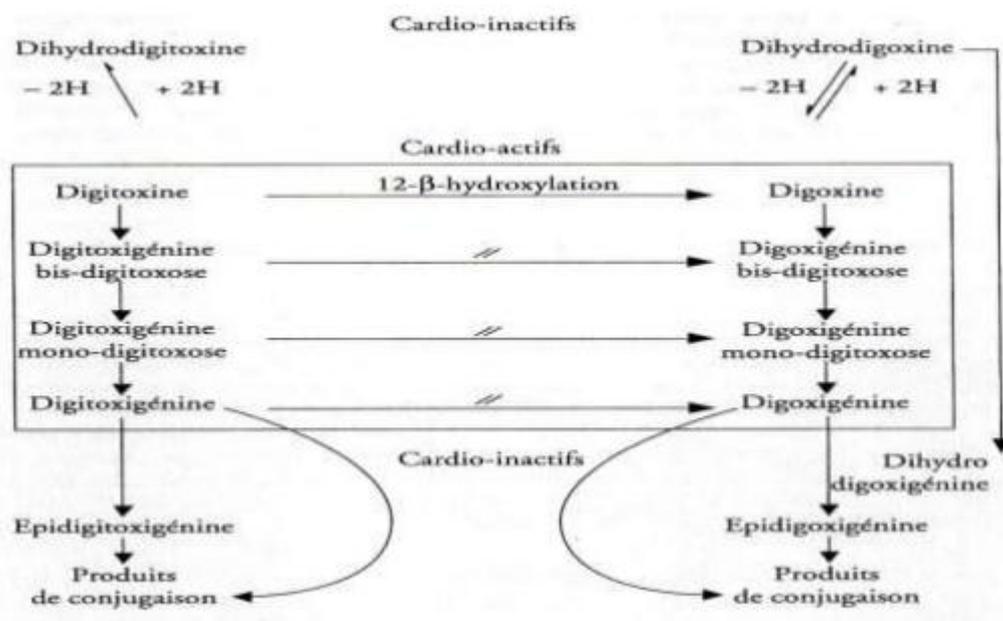


Figure 10. Métabolisme de la digoxine et de la digitoxine. (37)

5.4. Elimination

L'élimination est essentiellement rénale (90%) sous forme non-biotransformée. L'excrétion se fait par une filtration glomérulaire et une faible sécrétion tubulaire.

L'élimination biliaire est quant à elle accessoire.

Il existe une étroite corrélation entre la clairance rénale de la digoxine et le débit de filtration glomérulaire, ce qui impose une adaptation de posologie en cas d'insuffisance rénale. (17,38)

5.5. Demi-vie

La demi-vie d'élimination plasmatique est de 36 heures, variable selon la fonction rénale et l'âge. (33)

5.6. Facteurs influençant la pharmacocinétique de la digoxine

5.6.1. Le vieillissement

Les sujets âgés présentent une sensibilité remarquable aux troubles de l'absorption intestinale, une altération du métabolisme hépatique et de l'élimination rénale, ainsi qu'une diminution de la masse musculaire. L'association de ces facteurs entraînent un allongement de la demi-vie plasmatique de la digoxine et une diminution de son volume de distribution. De ce fait, une posologie réduite chez ce sujet et un calcul de la clairance à la créatinine sont donc souhaitables. (18,39)

5.6.2. Insuffisance rénale

L'insuffisance rénale prolonge la demi-vie de la digoxine car son élimination se trouve altérée. Une corrélation entre la clairance à la digoxine et celle à la créatinine constitue un bon outil pour une adaptation de la posologie journalière de la digoxine. Chez l'adulte, les posologies de la digoxine sont de :

- 0,25 mg pour une clairance à la créatinine de 50 à 80 ml/mn.
- 0,1875 mg pour une clairance de 25 à 50 ml/mn.
- 0,125 mg pour une clairance de 10 à 25 ml/mn.

Les méthodes de dialyse n'éliminent qu'une faible quantité de digoxine et n'altèrent pas sa pharmacocinétique. (18,33)

5.6.3. Dysthyroïdie

Les sujets hyperthyroïdiens ont tendance à développer une résistance particulière à la digoxine, tandis que les sujets hypothyroïdiens développent plutôt une sensibilité accrue à cette molécule avec des digoxinémies plus élevées. Ceci s'explique par une clairance à la digoxine réduite chez ces sujets, qui induit une accumulation du médicament dans la circulation générale des patients atteints d'hypothyroïdie. (18,39)

5.6.4. Insuffisance respiratoire

L'hypoxie augmente les risques d'intoxication digitalique, favorisant notamment la survenue d'arythmies atriales. (18,39)(18)

5.6.5. Désordres hydroélectrolytiques

Des états d'hypokaliémie (dus à l'usage de diurétiques et de corticostéroïdes, à une malnutrition ou à un âge sénile) augmentent la sensibilité aux digitaliques, tandis que l'hyperkaliémie entraîne une résistance aux digitaliques qui est mise à profit pour le traitement des intoxications (l'augmentation du K^+ extracellulaire inhibe la fixation des digitaliques sur les récepteurs ATPasiques).

L'hypocalcémie diminue les effets des digitaliques alors que l'hypercalcémie et l'hypomagnésémie les augmentent, celles-ci peuvent donc faciliter la survenue d'un trouble du rythme pendant la thérapie (l'injection de calcium est contre-indiquée). C'est pourquoi, outre la réduction des posologies, le maintien d'un équilibre électrolytique normal est indispensable. (18,39)

5.6.6. Médicaments

Le charbon végétal, la colestyramine, les antiacides et la néomycine diminuent l'absorption intestinale de la digoxine. (39)

6. Mécanisme d'action

6.1. Rappel physiopathologique

Au niveau du cardiomyocyte, le Ca^{2+} extracellulaire entre à chaque dépolarisation via les canaux calciques voltage-dépendants de type L. L'augmentation modérée de la concentration calcique cytosolique qu'elle entraîne induit la libération du Ca^{2+} stocké dans le réticulum sarcoplasmique. Ce phénomène est appelé « la libération de calcium induite par le calcium ». Il en résulte une augmentation de la concentration calcique cytosolique disponible pour interagir avec les protéines contractiles, et donc une augmentation de la force de contraction des cardiomyocytes.

Pendant la repolarisation cardiomyocytaire, la diminution du calcium cytosolique est due à sa séquestration dans le réticulum sarcoplasmique par une pompe Ca^{2+} ATPase (SERCA) et à son efflux vers le milieu extracellulaire par une autre pompe Ca^{2+} ATPase (PMCA) et par un anti-porteur Na^+/Ca^{2+} . La capacité d'échange Na^+/Ca^{2+} de cet anti-porteur dépend étroitement de la concentration cytosolique du sodium. En effet, d'une part l'anti-porteur utilise le gradient sodique pour déplacer du calcium vers l'espace extracellulaire contre son propre gradient de concentration. D'autre part, les concentrations extracellulaires de Na^+ et Ca^{2+} sont bien moins variables que les concentrations cytosoliques dans des conditions physiologiques. (17)

6.2. La digoxine

L'action globale de la digoxine répond à la fameuse règle des « **3 R** » : elle ralentit, renforce et régularise les battements d'un cœur pathologique ;

- Renforce la contraction cardiaque.
- Ralentit et régularise les mouvements du cœur.

Elle possède donc une action :

- ✓ **Inotrope positive** : elle augmente la force de contraction du muscle cardiaque.
- ✓ **Chronotrope négative** : elle diminue la fréquence cardiaque.
- ✓ **Dromotrope négative** : elle diminue la conductibilité cardiaque.
- ✓ **Bathmotrope positif** : elle augmente l'excitabilité.
(L'effet bathmotrope est négatif aux doses thérapeutiques, positif aux doses toxiques)
- ✓ **Augmente le débit rénal** : action diurétique et diminution des œdèmes.

6.2.1. Effet inotrope positif

Les digitaliques sont de puissants et très sélectifs inhibiteurs du transport transmembranaire actif des électrolytes Na^+ et K^+ . Cet effet est lié à une liaison réversible de la sous-unité α de la pompe Na^+/K^+ ATP^{ase} qui permet de faire sortir le Na^+ contre le gradient de concentration et le gradient électrique. En présence de cette inhibition, il existe donc une élévation des concentrations sodiques intracellulaires. Ceci réduit le gradient sodique transmembranaire qui pousse la pompe à faire sortir le calcium, alors que ce dernier continue à entrer dans la cellule à chaque dépolarisation. (**Figure 11**)

Par conséquent, plus le calcium est recapté dans le réticulum sarcoplasmique, plus le calcium est disponible lors de la dépolarisation cellulaire suivante, d'où l'augmentation de la contractilité myocardique. (17)

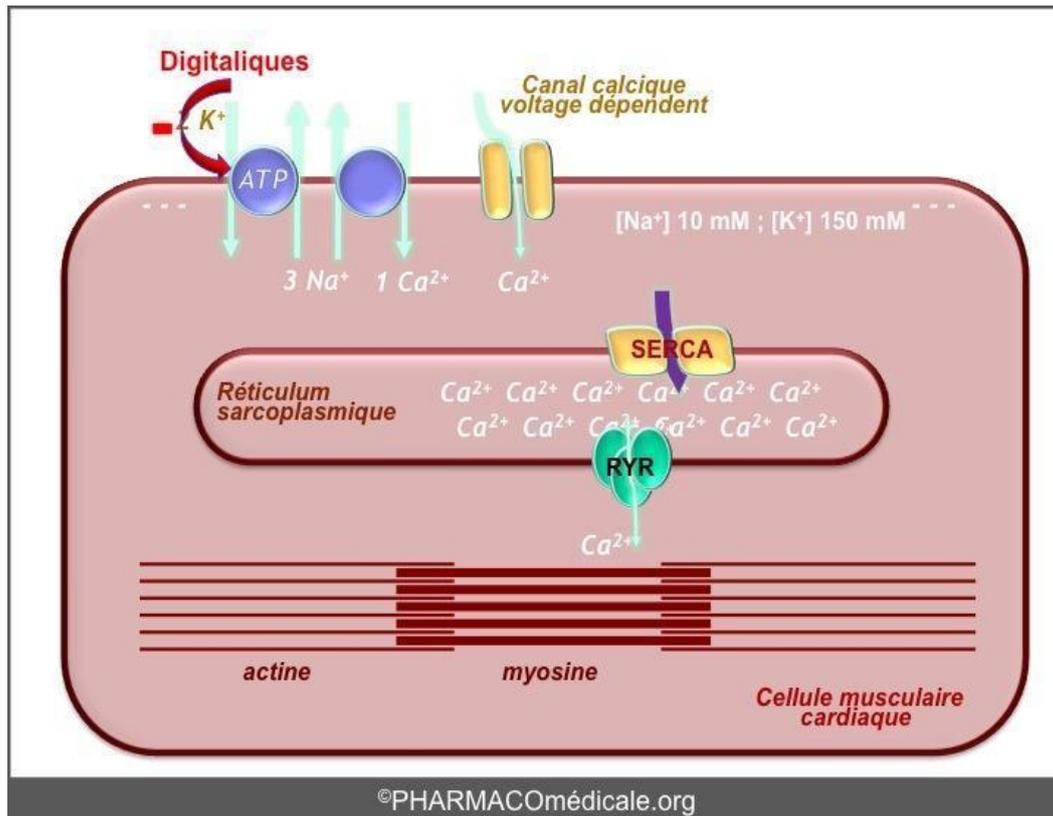


Figure 11. Effet de la digoxine sur la pompe Na^+/K^+ ATPase.

6.2.2. Action électrophysiologique

A des concentrations thérapeutiques, la digoxine diminue l'automatisme (action chronotrope négative) et ralentit la conduction auriculo-ventriculaire (action dromotrope négative). Ces phénomènes sont liés à une augmentation du tonus vagal et à une diminution du tonus adrénergique. A des concentrations plus élevées, elle augmente l'excitabilité ventriculaire. (17)

6.2.3. Effet de régulation du tonus sympathique

Il existe un effet direct des digitaliques sur la réponse baroréflexe carotidienne aux variations de pression (sensibilité diminuée dans l'insuffisance cardiaque, restaurée, peut être par inhibition de l'ATPase des barorécepteurs) induisant une diminution du tonus sympathique. Cet effet de réduction de l'activation neuro-hormonale représente sans doute une partie importante de l'action des digitaliques. (17)

7. Effets et indications de la digoxine

La digoxine n'est plus un traitement de première intention de l'insuffisance cardiaque.

Elle améliore les symptômes de l'insuffisance cardiaque, mais son effet sur la mortalité est neutre voire délétère. Elle est donc indiquée uniquement :

- En cas de fibrillation auriculaire associée, pour ralentir la fréquence ventriculaire.
- En recours chez des patients restant symptomatiques après traitement par les médicaments ayant démontré un effet bénéfique sur la mortalité (inhibiteurs de l'enzyme de conversion et β -bloquants).
- **Troubles du rythme supra-ventriculaire** : Fibrillation auriculaire ; flutter auriculaire à réponse ventriculaire rapide (pas d'effet anti-arythmique direct, mais amélioration de la tolérance hémodynamique par ralentissement de la fréquence cardiaque et de la conduction auriculo-ventriculaire). (17,33)

8. Interactions médicamenteuses

Il existe plusieurs sources de la variabilité de réponses à la molécule de digoxine et les interactions médicamenteuses en sont la principale. (**Tableau II**)

Tableau II : Médicaments pouvant interagir avec la digoxine. (33)

Médicament	Conséquences
Médicaments hypokaliémies (Diurétiques, laxatifs, corticoïdes, amphotéricine B...)	Augmentation de la toxicité des digitaliques. (Effet bathmotrope positif)
Médicaments bradycardisants et à effet inotrope négatif (Amiodarone, Vérapamil...)	Majoration de l'effet chronotrope, dromotrope et inotrope négatif.
Le calcium en IV	Augmentation de la toxicité des digitaliques. (Effet bathmotrope positif)
Phénobarbital, Phénytoïne.	Diminution des concentrations plasmatiques.
Quinidine, inhibiteurs calciques, Amiodarone, Cyclines, Erythromycine et Salazosulfa-pyridine.	Majoration des concentrations plasmatiques par interférence avec la P-gp. (Augmentation de la biodisponibilité orale)

La digoxine est un inhibiteur de la P-gp, elle va donc induire une augmentation des concentrations sanguines des médicaments substrats de la P-gp (augmentation de l'absorption intestinale, diminution de l'élimination hépatique et rénale, meilleure diffusion hémato-

méningée). Il faut limiter dans la mesure du possible la co-prescription de ces médicaments et surveiller attentivement l'efficacité et la toxicité des médicaments substrats quand il n'existe pas d'alternative thérapeutique.

8.1. Principaux médicaments substrats de la P-gp

- Les anticancéreux "usuels/classiques" : anthracyclines, inhibiteur de topoisomérase II, paclitaxel, vinca-alcaloïdes.
- Les "nouveaux" anticancéreux : inhibiteurs de tyrosine kinase (pazopanib, erlotinib, afatinib, lapatinib, nilotinib, crizotinib, céritinib, bosutinib, idéalais, lenvatinib), ou autres anti tumoraux (trabectédine, vémurafénib, éribuline, lénalidomide, pomalidomide, DM1 dans l'association trastuzumab emtasine, vismodégib, olaparib, panobinostat, tramétinib, cobimétinib)
- Certains immunosuppresseurs : ciclosporine, tacrolimus, sirolimus, évérolimus.
- La colchicine.
- Les médicaments hypoglycémisants : sitagliptine, saxagliptine, linagliptine, empagliflozine.
- Les médicaments de l'hémostase : anticoagulants (rivaroxaban, apixaban, édoxaban, dabigatran), un antiagrégant le ticagrélor.
- Les antirétroviraux : ritonavir, saquinavir, ténofovir, maraviroc.
- Les antiviraux : sofosbuvir, daclatasvir, lédipasvir, siméprévir, téléprévir, paritaprévi.
- Les antifongiques : posaconazole. (17,33)

9. Contre-indications de la digoxine

9.1. Formelles

- Bloc auriculo-ventriculaire de 2ème ou 3ème degré non-appareillé
- Hyperexcitabilité ventriculaire
- Hypokaliémie (augmente la toxicité myocardique des digitaliques et favorise les troubles du rythme ventriculaire)
- Fibrillation auriculaire associée au syndrome de Wolff-Parkinson-White (risque d'accélération de la conduction sur le faisceau accessoire)
- Cardiomyopathie hypertrophique obstructive et rétrécissement aortique serré (l'effet inotrope positif va augmenter l'effet hémodynamique de l'obstacle)

- Cardiothyroïse
- Calcithérapie par voie intraveineuse

9.2. Relatives

- Bloc auriculo-ventriculaire du 1er degré : surveillance stricte (clinique + E.C.G) lors de l'instauration du traitement.
- Insuffisance rénale sévère : nécessité de diminuer les doses et de vérifier par suivi thérapeutique pharmacologique la concentration plasmatique de la digoxine.
- Age (les sujets âgés, avec amaigrissement et fonction rénale altérée sont un terrain favorisant l'intoxication digitalique) : nécessité d'une surveillance.
- Hypercalcémie, favorisant la survenue de troubles du rythme ventriculaire. (17,33)

10.Intoxication à la digoxine

10.1. A dose thérapeutique

Les effets indésirables sont rares si les concentrations plasmatiques sont adéquates.

La survenue d'effets indésirables est en général un signe de surdosage ; on distingue :

10.1.1. Des effets cardiaques

Les plus graves, résultant de la majoration des effets chronotrope négatif, dromotrope négatif et bathmotrope positif. Des troubles d'excitabilité ventriculaire de gravité variable surviennent fréquemment, ce qui permet l'apparition d'un signe d'alerte : l'extrasystole ventriculaire.

Très fréquemment, sur le plan électrocardiographique on note une bradycardie sinusale ou ralentissement d'une fibrillation auriculaire par ralentissement de la conduction auriculo ventriculaire :

- Raccourcissement de l'intervalle QT.
- Sus-décalage en cupule du segment ST, prédominant dans les dérivation précordiales gauches ; il ne s'agit pas d'un signe de surdosage ou de toxicité mais d'imprégnation.
- Aplatissement ou négativation des ondes T.

Ces anomalies rendent difficile l'interprétation et la repolarisation.

10.1.2. Des effets extracardiaques (digestifs, neurosensoriels)

De fréquents vomissements et nausées de gravité modérée sont les premiers signes pouvant apparaître en cas de surdosage.

10.2. A dose toxique

Symptômes :

- Troubles cardiaques avec anomalies de l'ECG potentiellement graves, voire mortelles ; tous les troubles de la conduction et de l'excitabilité peuvent être observés. (Extrasystoles ventriculaires, souvent bigéminées, tachycardie ventriculaire tachysystolie auriculaire avec conduction 2/1, troubles de conduction)
- Troubles digestifs : sont les premiers signes de surdosage (anorexie, nausées, vomissements, diarrhées)
- Troubles visuels (dyschromatopsie : troubles de la vision des couleurs, hallucinations visuelles)
- Troubles neurologiques (vertiges, céphalées, insomnie, troubles psychiques chez le sujet âgé) (17,33)

On considère que la toxicité se manifeste généralement pour des concentrations supérieures à **2,0 ng/ml**, mais il convient de se rappeler qu'il s'agit d'un seuil relativement arbitraire. (17)

10.3. Prise en charge de l'intoxication digitalique

- Dans le cas d'un surdosage thérapeutique : il faut arrêter le digitalique et se reposer, s'abstenir de la prise d'anti arythmiques ou d'isoprénaline du fait du risque accru de troubles de rythme ventriculaire.
- En cas de bradycardie : il faut administrer de l'atropine
- En cas d'hyperexcitabilité myocardique : administration de phénytoïne ou de lidocaïne.
- L'utilisation des anticorps monoclonaux spécifiques Fab, antidote spécifique, est indiquée en cas de toxicité avec la mise en jeu du pronostic vital, en particulier les arythmies ventriculaires graves ou les blocs atrio-ventriculaires ne répondant pas à l'atropine.

Ces anticorps sont issus d'immunoglobulines de moutons immunisés avec un digitalique, fournis sous forme de poudre lyophilisée. Leur efficacité repose sur une liaison quasi-

complète de la fraction libre de digoxine présente dans l'espace extracellulaire, entraînant la formation de complexes anticorps-digoxine inactifs. Le gradient de concentration provoque une diffusion de digoxine intracellulaire vers l'espace extracellulaire où elle est neutralisée par les anticorps. Il existe un risque de choc anaphylactique. La dose administrée dépend de la quantité de digoxine à neutraliser. (17,33)

11. Le suivi thérapeutique et pharmacologique

Le suivi thérapeutique des médicaments est une branche clinique de la chimie et de la pharmacologie spécialisée dans la surveillance des taux sanguins de médicaments. L'intérêt est de permettre une surveillance précise des substances pharmacologiquement actives ayant une fenêtre thérapeutique étroite, c'est-à-dire des médicaments pour lesquels un sous-dosage ou un surdosage peuvent s'avérer délétères. (40)

La mesure des concentrations sériques des digitaliques constitue une étape importante dans la détermination d'une posologie adaptée à chaque patient. Le suivi thérapeutique de cette classe de médicaments nécessite la prise en compte de multiples facteurs intrinsèques ou extrinsèques qui peuvent influencer les concentrations sériques et les effets des digitaliques. Il impose, en outre, une démarche rationnelle tant au niveau de la prescription et du prélèvement qu'au niveau de la prise de décision. (41)

11.1. Réalisation du STP de la digoxine

11.1.1. Prélèvement, transport et conservation

Les prélèvements doivent être effectués une fois l'équilibre atteint, soit au moins 8 jours, notamment après chaque adaptation de posologie, ce temps peut être prolongé chez les patients souffrant d'insuffisance rénale. Une suspicion de toxicité constitue la seule exception à la règle, où le prélèvement doit être effectué à l'apparition des signes cliniques.

Pour obtenir une interprétation fiable, les concentrations sériques doivent être déterminées au-delà de la phase de distribution (au moins 6 heures suivant la dernière prise orale ou 4 heures après une prise IV).

Cependant, il est nécessaire de connaître certains renseignements cliniques indispensables tels que : l'âge, la taille, le poids du sujet, l'heure et la date de la dernière prise, les renseignements posologiques (nom du médicament, dose journalière), la date du début du traitement et/ou

d'une éventuelle modification de la posologie, le motif de la prescription (recherche d'efficacité et/ou de toxicité). (42)

11.1.2. Interprétation des résultats

L'interprétation des résultats doit tenir compte des risques liés aux phénomènes de réactivité croisée avec les métabolites des digitaliques, actifs ou non, et surtout avec les substances endogènes comme les Digitalis-Like Immunoreactive factor pouvant conduire à des concentrations faussement élevées. Toutefois, l'interprétation des résultats ne se résume pas aux seules valeurs de concentrations plasmatiques observées, mais nécessite une parfaite connaissance de l'état clinique et du bilan biologique du patient. (42)

❖ Les paramètres utilisés pour l'interprétation des résultats

Plusieurs paramètres doivent être pris en considération pour une bonne surveillance et une interprétation fiable des résultats :

- Surveillance électrocardiographique (ECG).
- Dosage des électrolytes.
- Calcul de la clairance de la créatinine.
- Les pathologies associées.
- Les interactions médicamenteuses.

CHAPITRE III

Substances analogues à la digoxine « DLIS »

Introduction

Depuis l'introduction du dosage immunologique de la digoxine, des interférences avec des métabolites sériques ont été décrites particulièrement chez les insuffisants rénaux, les insuffisants hépatiques, la femme enceinte et le nouveau-né. D'abord considérées comme des artefacts de manipulation, des études plus approfondies sur ces interférences ont conduit tout d'abord au concept de digitalique endogène. De différentes origines, on parle alors de substances analogues à la digoxine « *Digoxin-Like Immunoreactive Substances* » pour toute substance interagissant avec le dosage immunologique de la digoxine, et lorsqu'une synthèse endogène d'un analogue a lieu, à cause d'un argument physiologique ou physiopathologique, on parle alors de facteurs endogènes immuno-réactifs analogues à la digoxine « *endogenous digoxin-like immunoreactive factors* ». (43)

Les facteurs endogènes analogues des digitaliques sont un groupe de stéroïdes agissant en régulateurs de l'enzyme ubiquitaire Na^+/K^+ ATP^{ase}. Initialement proposés comme hormones vasoconstrictrices natriurétiques, ces facteurs participants, dans les conditions physiologiques, à la régulation de l'excrétion rénale du sodium ainsi qu'à celle de la tension artérielle, contribuent, lorsque leur taux est pathologiquement élevé, à certains types d'hypertension. Bien qu'à l'origine, ils furent proposés comme un seul « facteur » interagissant avec les Ac spécifiques anti-digoxine ; une étude ultérieure a montré que les facteurs endogènes immuno-réactifs analogues à la digoxine dits « EDLF » sont en fait composés de multiples facteurs, dont tous n'ont pas encore été identifiés. Il a été démontré par la suite, que ces facteurs réagissent de manière croisée avec nombreux Ac anti-digoxine, par conséquent, les taux de ces facteurs pourraient eux aussi, être mesurés par de nombreux dosages radio-immunologiques de la digoxine. Rétrospectivement, cette réactivité croisée des EDLF avec les Ac Anti-digoxine a été observée pour la première fois, chez les nouveaux nés, puis, postérieurement, chez les femmes enceintes. Une vaste documentation fut publiée sur les EDLF dans les tissus fœtaux et maternels, tant dans les conditions physiologiques que lors de divers états pathologiques de grossesses. (44)

1. Historique

Après le développement et l'application d'une méthode de dosage de la digoxine par Radio-immunologie (RIA) à la fin des années 1960, on a découvert que les nouveau-nés et les nourrissons traités par de la digoxine présentaient des taux sanguins supérieurs à ceux des enfants plus âgés et aux adultes, sans pour autant présenter de toxicité accrue à la

digoxine. Cette élévation des taux fut d'abord attribuée à des doses plus élevées par kilogramme de poids corporel. Cependant, des « faux positif » présentant une fausse hyper-digoxinémie notamment chez des femmes enceintes, dans le sang de cordon ainsi que dans le liquide amniotique provenant de sujets non-traités par la digoxine furent enregistrés. Initialement considérée(s) comme substance interférente, la reconnaissance de la ou des substances interagissant avec le dosage par RAI de la digoxine comme étant des EDLF à effet natriurétique et possédant des propriétés vasoconstrictrices a conduit à mener de nombreuses études sur les tissus fœtaux, néonataux et maternels dans les conditions physiologiques et divers états physiopathologiques comprenant la prééclampsie (PE) qui est sans conteste, le trouble hypertensif le plus grave de la grossesse. (43)

Après la découverte des endorphines ; l'équivalent endogène des opiacés, l'hypothèse de l'existence d'un équivalent endogène des glycosides cardiotoniques fut évoquée et l'hypothèse que les Ac anti-digoxine pourraient être capables de détecter la présence dans les fluides corporels de ces substances immuno-réactives structurellement analogues à la digoxine a été émise. Les DLIS interagissent avec les Ac anti-digoxine et provoquent des réactions croisées lors des dosages de la digoxine par méthodes immunologiques. Ils inhibent également la pompe Na^+/K^+ ATP^{ase} , action similaire à celle de la digoxine. Gruber et al. ont pour la première fois, démontré la présence de DLIS endogènes en 1980 chez des chiens présentant une hypervolémie. Après cela, Craver et Valdes ont signalé une augmentation inattendue de la concentration sérique de digoxine chez un patient souffrant d'insuffisance rénale traité par celle-ci. Le taux sérique apparent de digoxine persistait chez ce patient même après l'arrêt du traitement par la digoxine. Balzan et al. ont également confirmé la présence de DLIS dans l'urine et le plasma humains, ces substances ont été retrouvées dans divers fluides corporels et tissus humains, notamment le sang du cordon, le placenta, le liquide amniotique, le méconium biliaire, le liquide céphalo-rachidien ainsi que la salive.(44)

2. Structure des DLIS

N'étant pas un seul et unique composé, les DLIS peuvent être regroupées en classe de composés. Dès l'introduction du premier Ac anti-digoxine, il est reconnu que la majorité des stéroïdes interagissent, dans une certaine mesure, avec ce dernier. Ainsi, plusieurs chercheurs ont identifié des acides gras non-estérifiés, des phospholipides et des lyso-phospholipides comme étant des DLIS. De nombreux chercheurs ont identifié la progestérone, la 17-OH progestérone, le cortisol, ainsi que les sels biliaires glyco-dihydroxylés et glyco-trihydroxylés

comme étant des DLIS. Shaikh et al ont rapporté que les DLIS ont un poids moléculaire de 780 d, composés d'une structure non-glucidique (aglycone = génine) de 390 d et de plusieurs fractions glucidiques. De Angelis et al. ont caractérisé les DLIS comme possédant un seul pic par chromatographie liquide à haute performance (HPLC) à partir de sérums humains avec un temps de rétention (TR) similaire à celui de la digoxine et en ont conclu que la structure des DLIS était donc similaire à celle de la digoxine. Qazzaz et al ont rapporté que de subtiles différences structurales existent entre les DLIS et la digoxine, notamment au niveau du cycle lactonique ainsi que dans la nature du sucre. En outre, des équivalents déglycosylés des DLIS existent également au niveau de sérum humain.(44)

3. Origine des DLIS

3.1. DLIS exogènes

3.1.1. Interférence de la spironolactone et ses métabolites dans le dosage de la digoxine

La spironolactone, un antagoniste compétitif de l'aldostérone, a été utilisée cliniquement dans le traitement de l'hypertension et de l'insuffisance cardiaque congestive pendant une longue période. Elle est rapidement et intensivement métabolisée, et son métabolite (le canrénone) est également pharmacologiquement actif. La spironolactone et le canrénone sont fortement liés aux protéines sériques (90%) et possèdent une analogie structurale avec la digoxine.

Parce que la spironolactone et la digoxine peuvent concomitamment être prescrites, l'interférence de la spironolactone et du canrénone dans le suivi thérapeutique de la digoxine est problématique. Dès 1974, l'interférence positive de la spironolactone et de son métabolite actif dans le dosage par RIA de la digoxine a été signalée. Le canrenoate de potassium a également démontré une interférence positive au cours du suivi thérapeutique de la digoxine à la fois par dosage RIA et par méthode immuno-enzymatique.

Morris et al ont, pour la première fois signalé une interférence positive de la spironolactone dans la mesure de la digoxine par dosage FPIA en 1988.

Plus tard, d'autres auteurs ont vérifié l'interférence de ces deux molécules dans le dosage FPIA et d'autres immuno-dosages couramment utilisés pour le dosage de la digoxine. Okazaki et al ont également signalé des taux de digoxine faussement élevés chez des patients recevant de la digoxine et du canrenoate de potassium.

Les auteurs ont rapporté deux cas dans lesquels la réactivité croisée au cours du dosage a provoqué des problèmes cliniques, et ont ainsi recommandé l'utilisation du dosage digoxine OPUS (OPUS Diagnostics) qui a montré une réactivité croisée minimale.

Steimer et al ont décrit une interférence négative du canrénone dans la mesure de la digoxine. Le canrénone et la spironolactone ont provoqué des interférences négatives lors du dosage de la digoxine lors de l'utilisation d'une méthode MEIA pour le dosage.

Les concentrations sous-thérapeutiques trompeuses de digoxine mesurées à plusieurs reprises lors du dosage de celle-ci ont faussement orienté le suivi, ce qui a conduit à une toxicité à la digoxine chez les patients. En tirant parti de la forte liaison protéique de la spironolactone et de ses métabolites d'une part, et de la faible liaison protéique de la digoxine d'autre part, il serait possible d'éliminer l'interférence de ces composés lors de la mesure de la digoxinémie en ne surveillant que les taux de digoxine libre lors du suivi thérapeutique. (44)

3.1.2. Interférence des thérapies d'origine chinoise dans la mesure de la digoxine

- **Le Chan Su**

Le Chan Su ; préparé à partir des sécrétions blanches séchées des glandes auriculaires et cutanées des crapauds (*Bufo melanostictus Schneider* ou *Bufo bufo gargarinas Gantor*).

C'est également un composant majeur des médicaments traditionnels chinois connus sous les noms de Lu-Shen-Wan et de Kyushin, utilisés pour le traitement d'affections telles que l'amygdalite, les maux de gorge ainsi que les palpitations. Administré à petites doses, le Chan Su est également utilisé pour stimuler les contractions du myocarde, pour ses effets anti-inflammatoires ainsi que pour soulager la douleur. L'effet cardiotonique du Chan Su est dû à ses principaux Bufadiénolides, comme la Bufaline, la Cinobufagine et la Résibufogénine.

La bufaline est connu pour bloquer la vasodilatation et augmenter la vasoconstriction, les résistances vasculaires ainsi que la pression artérielle en inhibant la pompe Na^+/K^+ ATP^{ase}. Fushimi et Amino ont signalé une digoxinémie de **0,4 ng/mL** (0,5 nmol/L) chez un volontaire sain après ingestion de comprimés de Kyushin contenant du Chan Su comme principal composant. Panesar a signalé une concentration apparente de digoxine de **0,9 ng/mL** (1,2 nmol/L) chez un volontaire sain ayant ingéré des pilules de Lu-Shen-Wan. Il a utilisé le FPIA (sur analyseur TDx) pour cette étude.

Une concentration apparente de digoxine de 4,9 ng/mL (6,3 nmol/L) mesurée par le dosage par FPIA a été rapportée chez une femme décédée après consommation d'une tisane chinoise contenant du Chan Su. L'extrait de Chan Su a également faussement augmenté la

concentration sérique en digoxine in vitro lors de l'utilisation du dosage par FPIA pour la mesure de la digoxine sérique. En revanche, les taux sériques de digoxine étaient faussement abaissés lorsque le dosage par méthode MEIA (sur analyseur AxSYM Abbott®) a été appliqué.

Cependant, les composants du Chan Su responsables de l'immuno-réactivité par similitude avec la digoxine sont essentiellement liés aux protéines sériques (> 80%).

Ainsi, du fait de la forte liaison protéique du Chan Su et de la faible liaison de la digoxine aux protéines sériques (25%) cette interférence peut être éliminée.

- **Le Ginseng sibérien**

Un seul cas d'interférence dû au Ginseng Sibérien lors de la mesure de la digoxinémie a jusqu'à lors été signalé. Il s'agissait d'un homme de 74 ans qui présentait, pendant 10 ans, un taux stable de digoxine sérique compris entre **0,9 à 2,2 ng/mL**.

Celui-ci a anormalement augmenté, allant jusqu'à **5,2 ng/mL** après la prise de Ginseng sibérien. Bien que ce taux témoigne d'une toxicité à la digoxine, le patient n'a manifesté aucun signe de toxicité à celle-ci. Le patient a cessé de prendre du ginseng de Sibérie et son taux de digoxine est alors revenu à la normale.

- **Le Dan Shen**

Il s'agit d'une autre herbe chinoise préparée à partir de racines de la plante médicinale chinoise *Salvia miltiorrhiza* utilisée en Chine pendant de nombreuses années pour traiter diverses maladies cardiovasculaires, comprenant l'angine de poitrine. Ces composés présentent une analogie structurale avec la digoxine. Nourrir des souris de Dan Shen a provoqué une immuno-réactivité par similitude à la digoxine pour des échantillons sériques. Cependant, l'activité des DLIS était limitée et moins significative que celle observée chez les souris nourries avec du Chan Su. Des études in-vitro ont indiqué que le Dan Shen peut faussement augmenter les taux sériques de digoxine lors des dosages par FPIA. Cependant, ces valeurs étaient faussement abaissées avec la méthode par MEIA. Les composants du Dan Shen responsables des interférences par DLIS sont eux aussi, fortement liés aux protéines plasmatiques, et un suivi des taux de digoxine libre, élimine cette interférence.(44)

3.2. DLIS endogènes : *Endogenous Digoxin-Like immunoreactive Factors* dits « EDLF »

Les facteurs endogènes immuno-réactifs analogues à la digoxine dits « EDLF » peuvent être groupés en deux potentielles classes de composés candidats EDLF : le stéroïde cardiotonique dérivé de plantes d'une part ; l'Ouabaïne et les bufodiénoles d'une autre. Ces deux composés seront collectivement appelés stéroïdes cardiotoniques endogènes (eCTS).(43)

3.2.1. L'ouabaïne endogène

Une substance identifiée par spectrométrie de masse (SM) comme étant de l'ouabaïne authentique a été isolée et purifiée à partir de 300 L de plasma humain et un dosage immunologique a été mis au point. La synthèse surrénalienne d'ouabaïne endogène par un clivage de la chaîne latérale du cholestérol a été démontrée par les cellules corticosurrénales bovines in-vitro et par des chiens vivants in-vivo. En outre, deux isomères uniques de l'ouabaïne ont été identifiés, dont l'un pouvant provenir du cerveau. En utilisant la technologie des anticorps, les Ac anti-ouabaïne polyclonaux et monoclonaux réagissent de manière croisée avec une ou plusieurs substances isolées du plasma de femmes enceintes et de nouveaux nés et ne réagissent pas de manière croisée avec les bufodiénoles.

3.2.2. Les bufodiénoles

Un deuxième candidat EDLF est la famille des stéroïdes connus depuis de nombreuses années chez les crapauds ; les bufodiénoles. Ces composés, contrairement à l'ouabaïne qui inhibe l'isoforme α -2, inhibent l'isoforme α -1 de la pompe Na^+/K^+ ATP^{ase}. Alors que plusieurs composés de cette famille ont été identifiés dans divers tissus humains, l'attention s'est concentrée sur la marino-bufa-génine (MBG), d'abord détectée dans le plasma et l'urine humains par la des anticorps, puis identifiée par SM dans l'urine humaine. Les anticorps anti-MBG présentent une réaction croisée avec d'autres bufodiénoles, mais pas avec l'ouabaïne, la digoxine ou d'autres hormones stéroïdiennes. Une autre confirmation de l'existence de la MBG humaine est la démonstration récente d'une voie de synthèse de MBG endogène à partir du cholestérol dans des cellules dérivées du placenta et de la corticosurrénale. Les détails complets de la voie complète de synthèse, en particulier les dernières étapes de celle-ci, n'ont pas encore été renseignés.(43)

3.2.3. Les stéroïdes cardiotoniques immuno-réactifs maternels et néonataux

Une seule étude longitudinale utilisant des Ac anti-ouabaïne au cours d'une grossesse humaine normale a été rapportée. Les résultats de cette dernière étaient similaires à ceux des études utilisant les Ac anti-digoxine. Les taux sanguins, mesurés en picomoles, étaient plus élevés pendant la grossesse que chez les femmes non-enceintes. Comme indiqué pour les EDLF, les taux sanguins maternels ont commencé à augmenter au cours du premier trimestre, ont augmenté progressivement au cours des deuxième et troisième trimestres pour rapidement diminuer après l'accouchement. Les taux sanguins maternels en ouabaïne pendant la grossesse dans trois études transversales étaient mesurables en nanomoles. L'ouabaïne immuno-réactive peut également être extraite du placenta normal. Trois études sur les EDLF dans le sang de cordon traité par séparation HPLC ont montré une ou plusieurs substances réagissant de manière croisée avec les anticorps polyclonaux anti-ouabaïne. Les taux d'ouabaïne immuno-réactive dans le sang de cordon étaient dans la plage des nanomoles faibles dans une étude, tandis qu'ils étaient dans la plage pico-molaire dans deux autres études. Comme avec les EDLF, les taux sanguins d'ouabaïne immuno-réactive chez les nouveau-nés étaient environ 14 fois plus élevés que ceux de la mère (**72 ± 7 pm/l, contre 5 ± 2 pm/l**). Quelque peu différents des EDLF, les taux d'ouabaïne ont augmenté avec l'âge gestationnel jusqu'à environ 37 semaines après quoi, une diminution rapide s'est produite. L'extrait de sang de cordon présentant une immuno-réactivité de l'ouabaïne a également inhibé l'activité Na^+/K^+ ATP^{ase} des érythrocytes, dont l'effet est inversé par traitement avec l'Ac anti-digoxine. Des facteurs réagissant de manière croisée avec les anticorps anti-MBG ont également été détectés dans le plasma maternel de l'ordre du faible nano-molaire au cours du troisième trimestre, de la marino-bufa-génine et un composé analogue à la bufaline ont été isolés à partir de placenta humain normal. Les taux de MBG chez les femmes enceintes en bonne santé étaient deux fois plus élevés que chez les adultes normaux (**0,625 ± 0,067 nm/l** par rapport à **0,297 ± 0,037 nm/l**). Dans quatre études distinctes menées dans le même laboratoire, les taux de MBG étaient **30 à 90%** plus élevés que les taux d'ouabaïne chez les femmes enceintes normales. Comme indiqué, la MBG semble être synthétisée par le tissu placentaire. Bien qu'aucune étude n'ait encore été rapportée sur les EDLF dans le sang de cordon utilisant des Ac anti-MBG, il semble très probable que la MBG et éventuellement d'autres bufo-diénoles composent au moins une partie des EDLF présents dans le sang fœtal et néo-natal. (43)

4. Le rôle physiologique potentiel des DLIS

Il est démontré que les concentrations sériques de DLIS sont élevées chez les patients présentant des conditions associées à une hypervolémie, et que les DLIS peuvent également inhiber la Na^+/K^+ ATP^{ase}. En outre, elles ont été associées à la natriurèse, augmentant ainsi la possibilité que les DLIS jouent assurément un rôle dans l'homéostasie hydrique et sodique.

Garbagnati a démontré que les enfants présentant des concentrations élevées de DLIS montrent une natrémie significativement inférieure, une excrétion urinaire et fractionnelle du sodium plus élevée et une augmentation de la pression artérielle systolique par rapport aux enfants ne présentant aucune concentration mesurable de DLIS. Des concentrations élevées de DLIS dans le sérum et l'urine d'enfants atteints du syndrome néphrotique ont été rapportées. Les auteurs en ont conclu que les DLIS peuvent être impliquées dans la natriurèse et potentiellement réguler le transport actif du sodium chez ces enfants. Une expansion aigue de volume et une consommation importante de sodium ont augmenté les concentrations plasmatiques de DLIS chez des rats et chez des patients présentant une hypertension artérielle essentielle. Une corrélation positive significative a également été observée entre les DLIS urinaires et l'excrétion de sodium chez les sujets hypertendus.

Plus intéressant encore, l'ultrafiltrat de patients présentant une insuffisance rénale et des concentrations plasmatiques importantes de DLIS a provoqué une natriurèse lorsqu'il a été perfusé dans l'artère rénale d'un chien. Goodline a signalé un cas dans lequel la tension artérielle d'une femme enceinte pré-éclamptique était significativement réduite après traitement intraveineux par le fragment Fab de l'anticorps anti-digoxine, probablement en raison de la liaison de DLIS libres avec le Fab. Cependant, il existe d'autres rapports dans la littérature qui contestent le lien entre les DLIS élevés et la natriurèse ; Scott et al n'ont trouvé aucune différence dans les taux circulants de DLIS chez des lapins normo-tendus et hypertendus malgré des modifications marquées de l'apport en sodium alimentaire. Trachtman et al ont conclu qu'une augmentation de la concentration de DLIS n'entraîne pas d'augmentation de la pression artérielle.(44)

5. Population à risque

5.1. DLIS dans les conditions physiologiques

Les concentrations de DLIS dans le sérum de sujets non-traités par la digoxine dépendent du dosage immunologique utilisé. Le dosage FPIA (Abbott®) a une réactivité croisée avec les DLIS significative. Cependant, même avec cette méthode, les concentrations de DLIS chez les personnes saines sont généralement en dessous de la limite de détection de l'instrument

(0,2 ng/mL).(44) Bien que la concentration de DLIS dans les échantillons de sérum de personnes en bonne santé soit inférieure à la limite de détection d'un dosage immunologique de la digoxine, de nombreux états pathologiques peuvent considérablement augmenter la concentration de DLIS. (45)

5.2. DLIS et hypervolémie

L'expansion volumique est une cause majeure de l'élévation des concentrations sanguines de DLIS. Ainsi, ont été rapportées des concentrations de DLIS élevées dans les cas d'urémie, d'hypertension essentielle, d'hypertension liée à l'expansion du volume hydrique, d'hépatopathie, de prééclampsie, de transplantation hépatique et rénale, d'insuffisance cardiaque congestive, de prématurité et autres conditions pathologiques...

Howarth et al ont signalé des concentrations élevées de DLIS dans le plasma de patients hospitalisés en unité de soins intensifs. Bien que certains de ces patients présentaient un dysfonctionnement hépatique ou rénal, 42 d'entre eux ne présentaient ni de dysfonctionnement hépatique, ni dysfonctionnement rénal, et révélaient pourtant des concentrations élevées de DLIS. Pour la mesure des DLIS, les investigateurs ont utilisé un test de dosage par FPIA : les concentrations de DLIS allaient de **0,0 à 1,3 ng/mL** chez seize (**16**) patients tous atteints de dysfonctionnements hépatique et rénal co-existants, tandis que trente-huit (**38**) patients ne présentant qu'un dysfonctionnement hépatique avec fonction rénale saine ont montré une plage de concentrations de DLIS allant de **0,0 à 0,6 ng/mL**. Quatre (**4**) patients n'ayant seulement qu'une dysfonction rénale avaient quant à eux, des concentrations comprises entre **0,0 et 0,2 ng/mL**. Les 42 autres patients restants présentaient eux, des concentrations de DLIS allant de **0,0 à 0,3ng/mL**. Compte tenu de l'index thérapeutique caractéristiquement étroit de la digoxine (0,8-1,9 ng/mL), les concentrations de DLIS observées chez ces patients étaient donc significatives. Cet index thérapeutique est encore plus étroit (0,8-1,5 ng/mL) chez les patients présentant une insuffisance cardiaque congestive. Cette catégorie de patients a également présenté des concentrations sériques en DLIS élevées.

Miller et al ont rapporté une concentration de DLIS de **0,9 ng/mL** chez un patient ne recevant pas de traitement par la digoxine. Une concentration de DLIS de **1,2 ng/mL** chez un patient atteint d'insuffisance hépatique mais n'ayant reçu aucun traitement par la digoxine a également été rapportée. Logoglu et al. ont utilisé un test par RIA à deux sites pour la détection des DLIS dans des échantillons de sérum issus de patientes ayant une grossesse normale ainsi que des patientes pré-éclampsiques. La concentration moyenne de DLIS dans le

groupe des patientes normo-tendues (n = 14) était de **0,3** ng/mL. Au sein du groupe de patientes pré-éclamptiques (n = 17). La concentration moyenne des DLIS était, là aussi de **0,3** ng/mL. Les auteurs en ont conclu qu'il n'y avait pas de différence statistique entre les concentrations de DLIS dans ces deux groupes. Doolittle et al. ont décrit un patient chez lequel est observée une augmentation de la concentration sérique en digoxine avait été observée, allant de **2,5** ng/mL jusqu'à atteindre **9,3** ng/mL deux jours après qu'il ait subi une chirurgie cardiaque; le patient a également eu un arrêt cardiaque. La concentration en digoxine a rapidement diminué pour atteindre 4,0 ng/mL dans les heures qui ont suivi, puis plus lentement, pendant les onze jours suivants, jusqu'à atteindre 1,0 ng/ml, et ce, malgré l'absence de prise de digoxine. L'analyse des échantillons de sérums par une autre technique a confirmé ces valeurs. Les auteurs de cette étude, ont utilisé une méthode immunofluorimétrique pour le dosage de la digoxine, initialement, et une méthode RIA pour la reconfirmation des valeurs obtenues. Garbagnati a mesuré les concentrations de DLIS chez des enfants allant de 5 à 16 ans en utilisant un test de dosage par FPIA de la digoxine et a signalé des concentrations mesurables de DLIS chez 50% des enfants (plage : 0,0-0,4 ng/mL). Lusic et al. ont signalé des taux comparables de DLIS plasmatiques et dans le LCR chez 40 patients présentant une hémorragie sous-arachnoïdienne anévrysmale. Le premier jour, des concentrations de DLIS ont été détectées dans les échantillons de sérum de 34 patients (plage : 0,0-0,9 ng/mL, elles étaient détectables dans les prélèvements de LCR chez 32 patients (plage : 0,0-1,0ng/ mL). Le septième jour post-hémorragique, des taux de DLIS étaient présents dans les échantillons de plasma de 37 patients (plage : 0,0-1,5 ng/mL) et dans les LCR de 38 patients (plage : 0,0-1,7 ng/mL). Les auteurs de cette étude, ont utilisé un dosage immunologique par FPIA.(44)

5.3. DLIS et maladie bipolaire

Bien que la plupart des rapports dans la littérature décrit une augmentation des concentrations de DLIS, Grider et al. ont signalé une diminution des concentrations de DLIS chez les patients atteints du trouble maniaque bipolaire comparativement à des sujets témoins sains. Les auteurs ont utilisé une méthode RIA pour la mesure des concentrations de DLIS. La concentration moyenne des DLIS au sein du groupe témoin était de 296,6 pg/mL (379,6 pmol/L), tandis qu'elle était de 143,6 pg/mL (183,8 pmol/L) au sein du groupe présentant un trouble bipolaire.(44)

6. Détection de DLIS dans les fluides corporels

Les DLIS peuvent être détectés dans le sérum et d'autres liquides corporels par l'emploi de kits de dosage immunologique de la digoxine, en tirant parti de la réactivité croisée des DLIS avec les anticorps anti-digoxine. Des concentrations apparentes de digoxine, détectées par dosage RIA ont été rapportés par plusieurs investigateurs chez des patients non-traités par la digoxine. Certains de ces tests RIA à la digoxine ont plus tard, été abandonnés en raison de la forte interférence des DLIS. Bien que de nombreux chercheurs aient utilisé les tests de dosage de la digoxine déjà disponibles dans le commerce pour la détection des DLIS dans les fluides corporels, d'autres approches ont également été documentées.

Panesar a utilisé la bufaline comme antigène et a développé des anticorps polyclonaux pour la détection des DLIS. Lin et al ont développé une méthode de dosage immunologique employant une ouabaïne-enzyme à base d'anticorps polyclonaux pour détecter les DLIS, et ont également développé un Fab à partir de l'enzyme à base d'anticorps anti-digoxine utilisée lors du dosage immunologique à cet effet. Ils ont conclu qu'un dosage de l'ouabaïne employant des anticorps polyclonaux était plus efficace pour la détection de DLIS dans le sang humain. Des techniques de HPLC plus spécifiques utilisant des colonnes en phase inverse ont également été utilisées pour la détection des DLIS dans les liquides biologiques. Cependant, ces techniques sont fastidieuses et plus difficiles à mettre en œuvre en comparaison aux tests immunologiques automatisés.(44)

7. Les EDLF chez le fœtus humain

Les concentrations tissulaires d'EDLF ont été signalées chez un mort-né, les plus élevées étant observées dans l'intestin grêle, les surrénales, la vésicule biliaire et le foie dans cet ordre, néanmoins, une certaine quantité d'EDLF a été retrouvée dans chaque tissu. Des taux d'EDLF dans neuf organes ont également été signalés chez un fœtus de 6 mois dont la mère est morte d'un empoisonnement au Paraquat.

La plus importante réactivité croisée avec la digoxine a été observée dans l'intestin, suivie par celle observée dans les surrénales. L'activité inhibitrice de la Na^+/K^+ ATP^{ase} était la plus élevée dans les surrénales, suivie de celle dans l'intestin, mais les taux tissulaires d'inhibition de la Na^+/K^+ ATP^{ase} ne correspondaient pas exactement aux taux mesurés par dosage immunologique à la digoxine dans tous les tissus. Une annotation intéressante à ces études provient de mesures post-mortem des taux sériques de digoxine chez 27 enfants traités par la

digoxine soupçonnés d'être morts d'un surdosage sournois à la digoxine. Il a été démontré que les concentrations sanguines post-mortem de digoxine se situant dans la plage toxique, soupçonnées d'être dues à un surdosage délibéré, étaient dues à un transfert post-mortem du médicament du tissu vers le sang plutôt qu'à un empoisonnement délibéré. Un transfert post-mortem similaire a été constaté pour les EDLF chez des nourrissons décédés non-traités par la digoxine.(43)

8. Le placenta comme origine des EDLF

En essayant de prouver que le ou les facteurs analogues à la digoxine dans le sang et le placenta néonataux sont véritablement « analogues à la digitale », de nombreuses études ont documenté les propriétés physiologiques de divers échantillons testés positifs pour les EDLF. Dans les premières études, le sang du cordon ombilical inhibait l'efflux de sodium des leucocytes sensibilisés à l'ouabaïne. Les EDLF extraits du plasma néonatal, parfois partiellement purifié par chromatographie sur colonne, ont déplacé la liaison de l'ouabaïne à son récepteur sur les membranes érythrocytaires et ont inhibé de la Na^+/K^+ ATP^{ase} érythrocytaire, rénale et cérébrale d'une manière similaire à celle de l'ouabaïne et d'autres glycosides digitaliques, et à celle des EDLF retrouvés chez des sujets adultes. Une inhibition de la Na^+/K^+ ATP^{ase} a également été trouvée dans un placenta normal. Ces études suggèrent que les EDLF fœtaux/néonataux sont similaires à ceux retrouvés dans le sang maternel et dans le sang d'autres espèces de mammifères et qu'ils possèdent les propriétés d'un véritable composé endogène analogue à la digitale. Une origine placentaire des EDLF est corroborée par la découverte d'EDLF dans le tissu placentaire et dans le perfusât veineux fœtal des lobules placentaires. Dans l'une de ces études, la libération d'EDLF par les explants placentaires était réduite par le Kétoconazole, un inhibiteur de la synthèse des stéroïdes. En outre, une voie de synthèse pour un candidat EDLF, la marino-bufa-génine (MBG), a récemment été démontrée dans une lignée cellulaire placentaire humaine. La disparition rapide des EDLF du sang maternel après la naissance suggère une origine fœto-placentaire. Si le placenta était la source unique ou principale des EDLF fœtaux, des taux plus élevés dans les veines ombilicales que ceux des artères ombilicales seraient attendus. Cependant, la comparaison des taux artériels ombilicaux et des veineux à la naissance n'a montré aucune différence ou seulement des taux légèrement supérieurs dans la veine ombilicale. L'absence de différence A-V suggère que l'augmentation de la production à la naissance suggérée ci-

dessus est probablement fœtale plutôt que placentaire. Le site fœtal de la synthèse et de la sécrétion d'EDLF est actuellement inconnu.(43)

9. Rôle des EDLF dans la grossesse physiologique

L'augmentation des taux d'EDLF en fin de grossesse et chez le fœtus soulève la question du rôle physiologique que ces facteurs pourraient jouer dans un état gestationnel normal. Une grossesse normale est caractérisée par une augmentation du volume plasmatique maternel, une vasodilatation périphérique ainsi qu'une diminution de la pression artérielle. L'adaptation à ces changements profonds inclut des modifications des systèmes hormonaux régulateurs du volume plasmatique intervenant en réponse à une augmentation du volume plasmatique et à une baisse de la pression artérielle. Il est possible que les EDLF augmentent en réponse à l'augmentation du volume plasmatique et participent à la régulation de la pression artérielle et à l'excrétion rénale de sodium. Leur effet vasoconstricteur pourrait agir en tant que contre-régulateur de l'effet vasodilatateur de la relaxine et d'autres facteurs vasodilatateurs associés à une grossesse normale (la relaxine est une hormone peptidique sécrétée par les ovaires, le tissu mammaire, ou encore le placenta au cours des semaines précédant l'accouchement. Elle provoque l'assouplissement et la relaxation de l'utérus, des ligaments pelviens et de la symphyse pubienne, ce qui facilitera l'expulsion du bébé). Cette possibilité est étayée par une étude réalisée sur des souris gravides génétiquement modifiées, dans laquelle le site de liaison à l'ouabaïne, l'isomère α -2 de la pompe Na^+/K^+ ATP^{ase}, a été modifié pour le rendre résistant à la liaison à l'ouabaïne. Cela a entraîné une baisse de la pression artérielle et une augmentation du taux plasmatique d'ouabaïne endogène. Un autre effet bénéfique de l'ouabaïne endogène est suggéré par une étude chez la souris dans laquelle les taux d'ouabaïne endogène ont été réduits au cours de la grossesse par administration intra-péritonéale d'anticorps anti-ouabaïne. Cela a entraîné une diminution du poids corporel de la progéniture et une inhibition de la croissance des reins et du foie. De plus, le poids du bébé à la naissance variait avec le taux d'ouabaïne endogène de la mère chez les femmes enceintes normales à la parturition. Ces résultats suggèrent que l'ouabaïne endogène est un facteur de croissance nécessaire à la croissance et au développement normal du fœtus. Ces dernières études indiquent que l'effet de l'ouabaïne sur la croissance est médié par un signal de transduction des inhibiteurs de la pompe Na^+/K^+ ATP^{ase}. Du fait que l'ouabaïne endogène soit élevée lors de la prééclampsie, cet effet ne devrait pas jouer de rôle dans le retard de croissance fœtal qui accompagne souvent

cette condition. Interférer avec cet effet de croissance de l'ouabaïne par l'administration à court terme de fragments d'anticorps FAB au moment de l'accouchement chez les femmes atteintes de prééclampsie grave, ne devrait pas avoir d'effets néfastes sur le fœtus.(43)

10. EDLF et troubles hypertensifs lors de la grossesse

En raison du rôle d'inducteurs de l'hypertension des EDLF, la littérature s'est concentrée sur leur rôle éventuel dans la survenue de prééclampsie chez les femmes enceintes. La prééclampsie est un syndrome complexe avec de multiples manifestations cliniques, typiquement caractérisée par une hypertension et une protéinurie. Un modèle récent de sa physiopathologie souligne le rôle central des facteurs anti-angiogéniques prenant naissance dans un placenta ischémique. Selon ce modèle, ces facteurs provoqueraient un trouble généralisé des fonctions endothéliales maternelles, ce qui conduirait aux principaux symptômes cliniques de la prééclampsie. La possibilité que les EDLF maternels et fœtaux soient la cause d'une hypertension induisant la production d'une hormone natriurétique, a conduit à des études sur leur rôle éventuel dans l'étiologie de plusieurs troubles de l'hypertension gravidiques, en particulier lors de prééclampsie.(43)

10.1. EDLF maternels et prééclampsie

Les taux d'EDLF étaient plus élevés que la normale dans le sang périphérique et le liquide amniotique des femmes diagnostiquées pour une hypertension induite par la grossesse. Dans une des études menées, les taux d'EDLF étaient corrélés à la pression artérielle diastolique maternelle et des taux élevés ont également été observés dans un groupe de femmes ayant eu une grossesse à risque élevé, comprenant la prééclampsie. La plupart des patientes pré-éclampsiques se trouvaient dans le troisième trimestre et leurs âges gestationnels étaient généralement plus précoces que le contrôle normal de la grossesse. Des taux sanguins d'EDLF maternels mesurés par RIA et significativement élevés ont été rapportés dans six études ; dans l'une d'entre elles, les taux d'EDLF étaient plus élevés chez les femmes atteintes d'éclampsie que chez celles ayant une PE. Six autres études n'ont rapporté aucune différence dans les EDLF maternels au cours de PE. Aucune explication évidente de ces résultats discordants n'est apparente. Toutes les études utilisaient essentiellement les mêmes critères pour le diagnostic de PE. (43)

11. EDLF maternels, fœto-placentaires et néonataux

Dans les mesures effectuées sur des échantillons non-préchauffés, les taux chez les femmes enceintes sont de deux à six fois (2 à 6) plus élevés que ceux chez des témoins sains. La différence entre sujets non-enceints et sujets enceints a été réduite dans deux études mesurant les taux « totaux » des EDLF. Cette étude indiquerait que la proportion libre et légèrement liée des EDLF totaux chez les femmes enceintes soit augmentée par rapport aux sujets non-enceints. La question de savoir si cette augmentation des EDLF au cours d'une grossesse normale est entièrement due à l'augmentation de la fraction libre et légèrement liée reste ouverte. Il existe une augmentation progressive avec l'âge dans chaque étude. Le taux d'EDLF était indétectable dans deux des cinq études menées au premier trimestre, devenant détectables chez plus de 90% des patients au troisième trimestre. Les taux maternels d'EDLF diminuent rapidement après l'accouchement pour atteindre des niveaux presque indétectables 2 à 5 jours après. Ils étaient plus élevés à la naissance dans les grossesses gémellaires dans le rapport d'une étude, mais pas dans un autre, et démontrent une corrélation positive avec l'âge gestationnel fœtal et le poids à la naissance. Les taux chez le nouveau-né sont systématiquement **1,3 à 10 fois plus élevés** que ceux de la mère à tous les âges gestationnels et sont, contrairement aux taux présents dans le sang maternel, détectables dans presque 100% des cas. Des taux détectables d'EDLF persistent plus longtemps chez le nouveau-né que chez la mère après la naissance. Des taux d'EDLF dans le sang fœtal obtenu par choriocentèse, effectuée pendant la grossesse normale et pour diverses indications pathologiques ont été rapportés dans deux études. Dans l'une d'elles, les EDLF n'étaient détectables que dans 71% des cas, contre seulement 8% à la naissance. Dans l'autre, où le sang a été obtenu à 26,7 +/- 1 semaine de gestation, les taux d'EDLF étaient en-dessous de la limite de détection de l'analyse pour les 16 échantillons testés. Ces résultats suggèrent qu'avant la naissance, les taux d'EDLF fœtaux sont proches des taux maternels, ce qui amène à penser que leur élévation chez les nouveaux nés soit, au moins partiellement, due à une augmentation subite des sécrétions fœtales pendant la délivrance. Étant donné que les concentrations fœtales d'EDLF in-utero, sont en corrélation avec les concentrations des catécholamines, il semble raisonnable de penser que cette hypothétique augmentation post-partum pourrait être due au stress généré par l'accouchement. Pour renforcer cette hypothèse, une étude mesurant les taux chez les nouveaux nés a démontré qu'ils étaient inférieurs après une césarienne relativement à ceux suivant un accouchement par voie basse. Des études longitudinales menées chez des nouveau-nés, dont certains prématurés, montrent que les taux sanguins d'EDLF augmentent

de façon légère, plusieurs jours après la naissance, pour rapidement diminuer au cours des prochains jours, et diminuent ensuite plus lentement au cours des 2 à 6 semaines suivantes. Ce profil contraste avec celui observé dans le sang maternel où les taux s'élevaient progressivement pendant la grossesse, pour redescendre aux taux « non-enceintes » seulement, le premier jour post-partum.

Bien que certaines études suggèrent que les EDLF fœtaux et maternels soient le même composé, on ne sait pas encore si certaines des différences de taux mesurés entre le plasma maternel et fœtal sont dues aux différences des substances présentant une réaction croisée dans le fœtus par rapport aux circulations maternelles. On ne sait pas non plus si les taux maternels résultent entièrement de la diffusion transplacentaire ou d'une sécrétion endogène maternelle, résultant probablement de la surrénale en réponse à l'hypervolémie.(43)

12. Influence de l'âge gestationnel

Les EDLF maternels varient directement avec l'âge gestationnel, mais l'effet de ce dernier sur les taux sanguins d'EDLF fœtaux à la naissance est moins clair. Un rapport a montré une corrélation inverse entre les taux maximaux post-partum et l'âge gestationnel dans un groupe de prématurés. Une corrélation inverse similaire a été rapportée chez un groupe de nouveau-nés sains prématurés et nés à terme, dans un autre groupe de nouveau-nés présentant diverses affections, notamment un syndrome de détresse respiratoire et une pneumonie, et dans un groupe mixte de nouveau-nés sains et ceux présentant des troubles cardiaques et non-cardiaques. Au sein de ce dernier groupe, la corrélation négative n'était pas significative si le groupe sain était exclu. D'autres n'ont montré aucun effet de l'âge gestationnel.(43)

13. Approche analytique

La combinaison de la structure chimique de la digoxine (semblable à de nombreuses substances endogènes et exogènes) et son index thérapeutique étroit a posé un dilemme particulier au développement d'anticorps hautement spécifiques, d'abord pour les essais radio-immunologiques, mais de plus en plus pour les méthodes non-RIA. (46)

Après la découverte des EDLF, les études se sont portées sur les divers facteurs techniques capables d'affecter le dosage par RIA de la digoxine et d'intervenir dans la survenue de ces interférences. La plupart des plus anciennes études menées dans ce sens ont été réalisées sur la base de divers types de dosages par RIA ou encore par FPIA disponibles dans le commerce, kits contenant des Ac anti-digoxine polyclonaux et monoclonaux ne réagissant pas du tout

avec la (les) substance (s) endogène (s) ou présentant une réaction croisée avec celle(s)-ci à des degrés divers, en fonction de différentes conditions de dosage. Ces Ac peuvent également avoir une réaction croisée avec plus d'une substance endogène. Bien que les anticorps anti-digoxine réagissent de manière croisée avec des stéroïdes endogènes connus tels que la progestérone, la cortisone et les sulfates d'androstène, cette interaction ne survient probablement pas aux concentrations physiologiques de ces hormones. Une autre difficulté est que les EDLF soient liés aux protéines plasmatiques, limitant ainsi leur capacité à réagir avec les anticorps anti-digoxine. La mesure des EDLF sur des échantillons non préalablement chauffés détecte à la fois la forme libre et la forme légèrement liée des EDLF. Ainsi le préchauffage du plasma ou du sérum avant le test de dosage augmente la détection des EDLF qui sont étroitement liés aux protéines plasmatiques. La plupart des investigations faites à ce sujet n'ont seulement mesuré que les fractions d'EDLF libre et légèrement liée aux protéines plasmatiques, après avoir effectué les dosages sans préchauffage des prélèvements. Quelques études seulement, ont à la fois mesuré la fraction d'EDLF libre et totale. Une autre variable est que certains chercheurs ont utilisé diverses méthodes d'extraction antérieurement appliquées au dosage ; tandis que la plupart n'en ont pas appliqué. À la suite de ces problèmes, différents laboratoires ont signalé de grandes variations de la concentration des EDLF. Bien que les résultats soient largement cohérents dans chaque laboratoire en utilisant la même procédure. D'autres problèmes ont été rencontrés lors de l'interprétation des données.(43)

14. Interférence des DLIS dans le dosage de la digoxine

Etant donné, l'index thérapeutique étroit de la digoxine, l'impact sur la surveillance thérapeutique de celle-ci des DLIS retrouvées chez différents groupes de patients est significatif. En effet, l'interférence positive des DLIS dans le dosage par FPIA de la digoxine (Abbott®) est très bien documentée. De nombreux chercheurs ont utilisé ce test afin de mesurer les taux de DLIS chez divers patients non-traités par la digoxine.

Avendano et al. ont rapporté 89% de faux positifs à la digoxine dans le sang prélevé des veines périphériques des nouveaux nés et 100% de faux positifs à la digoxine dans le sang de cordon correspondant, par dosage FPIA. Ils ont également observé 60% de faux positifs chez des patients présentant une insuffisance hépatique sévère et en ont conclu que les taux de digoxine doivent très soigneusement être interprétés chez ces patients.

Frisolone et al ont étudié les taux apparents de digoxine sérique chez des patients hépatopathes, utilisant un dosage par FPIA, un dosage par RIA ainsi qu'un dosage fluorimétrique. Ces patients n'ont reçu aucune thérapie par la digoxine ou la spironolactone. Les auteurs ont observé des concentrations en digoxine apparentes chez **57%** des patients en utilisant le dosage par **RIA** (plage de détection : 0,2 - 0,6 ng/mL [0,3-0,8 nmol/L]), chez **55%** des patients lors de l'utilisation de la méthode par **FPIA** (plage : 0,2-1,6 ng/ mL [0,3-2,0 nmol/L]) et chez seulement **28%** des patients lors de l'analyse **fluorométrique** (plage : 0,2-0,4 ng/mL [0,3-0,5 nmol/L]). Il en a été conclu que les dosages de la digoxine par les méthodes RIA ainsi que par FPIA étaient tous deux plus sensibles aux interférences par les DLIS. Datta et al. ont étudié les potentielles interférences par les DLIS dans différents dosages immunologiques de la digoxine et en ont conclu que le test par chimiluminescence **CLIA** (sur analyseur ACS Bayer Diagnostics) ainsi que le dosage par fluoroimmunoassay (Stratus, Dade Behring) n'ont montré aucune interférence par les DLIS relativement au dosage par méthode RIA. Miller et al ont étudié les performances analytiques du test par CLIA pour le dosage de la digoxine sur analyseur ACS en comparant ce test avec le test FPIA (Digoxine II) et un test RIA digoxine. Les auteurs n'ont détecté aucun DLIS en utilisant le CLIA, mais des concentrations mesurables de DLIS ont été observées avec le test FPIA ainsi que par la méthode RIA. Ces auteurs ont également comparé les taux de digoxine dans 121 échantillons de sérum provenant de 49 patients et ont observé des valeurs comparables avec tous les tests de la digoxine. Cependant, il y'eut pour 11 patients, tous présentant une maladie rénale ou une maladie hépatique, des valeurs discordantes de digoxine. Celles-ci étaient toujours inférieures avec le CLIA comparativement aux autres dosages de la digoxine. Les auteurs en ont conclu que le dosage de la digoxine par CLIA sur l'analyseur ACS présentait une meilleure spécificité pour la mesure de la digoxine. Way et ses collaborateurs ont, quant à eux, évalué le test Vitros digoxin (Johnson et Johnson) qui est un dosage immuno-enzymatique en phase hétérogène par compétition, utilisant la technologie de la chimie sèche et l'ont comparé avec le test OnLine digoxin (Roche), qui est un dosage immunologique basé sur la méthode KIMS et avec un dosage utilisant une méthode immuno-enzymatique micro-particulaire MEIA (Abbott). Les concentrations moyennes de digoxine observées pour les trois différents dosages, chez 26 patients adultes traités par la digoxine étaient de **1,3 ± 0,7 ng/mL** ($1,7 \pm 0,9$ nmol/L) avec le dosage de **Roche® (KIMS)**, elle était de **1,3 ± 0,6 ng/mL** ($1,7 \pm 0,8$ nmol/L) en utilisant le dosage **Abbott (MEIA)** et de **1,5 ± 0,7 ng/mL** ($1,9 \pm 0,9$ nmol/L) avec le dosage **Vitros® (Chimie sèche)**. Pour étudier les interférences potentielles des DLIS (causes présumées d'une telle divergence) dans ces essais,

les auteurs ont ajouté des quantités connues de digoxine dans des échantillons de sérum préparés à partir de nouveau nés (concentrations élevées de DLIS) et d'adultes (pas de DLIS). Les échantillons de nouveau nés ont montré un taux moyen de digoxine de **0,4 ng/mL** (0,5 nmol/L) selon la méthode **MEIA** et de **0,7 ng/mL** (0,9 nmol/L) avec le dosage par chimie sèche. Les échantillons d'adultes ont montré une valeur moyenne de **0,7 ng/mL** (0,9 nmol/L) avec la méthode **MEIA** et de **0,8 ng/mL** (1,0 nmol/L) avec le dosage **Vitros**.

Les auteurs ont conclu que le biais positif dans le test Vitros par rapport au test Roche était probablement dû aux DLIS. Bonagura et al. ont rapporté une haute spécificité du test Roche OnLine pour la digoxine, qui ne présentait aucune réactivité croisée avec les DLIS et une réactivité croisée négligeable avec les métabolites non-cardioactifs de la digoxine. Marzullo et al ont rapporté que le dosage immunologique de la digoxine par méthode EMIT 2000 (Dade Behring) et le dosage immunologique de la digoxine par Roche OnLine étaient les moins affectés par les DLIS. Saccoia et al ont également confirmé l'amélioration de la spécificité du dosage de la digoxine par EMIT 2000 et de la très faible réactivité croisée des DLIS par rapport à la méthode par FPIA et en ont conclu que l'EMIT avait une spécificité, une sensibilité, une précision et une exactitude adéquates pour le contrôle de routine des concentrations de digoxine dans les laboratoires cliniques. Bien que la plupart des chercheurs aient signalé une interférence positive des DLIS avec la mesure de la digoxine sérique, des interférences négatives ont été observées concernant les DLIS dans le dosage par méthode MEIA.(44)

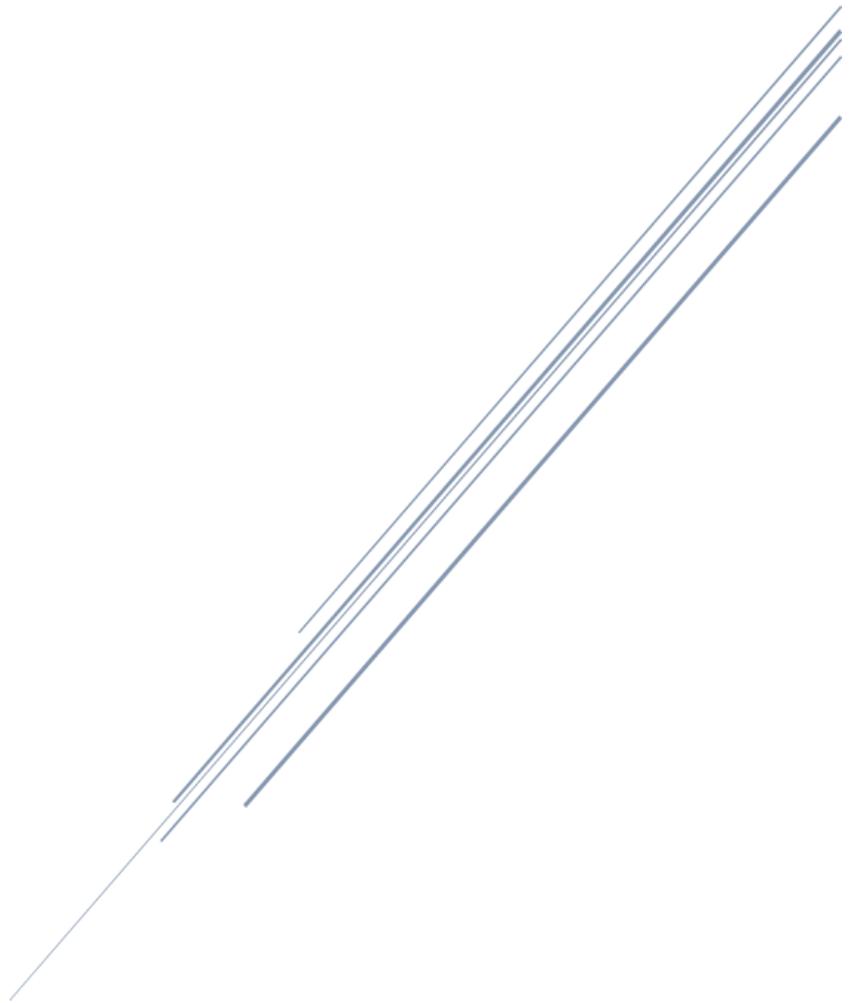
15. Élimination des interférences des DLIS dans les immuno-dosages

Valdes et Graves ont tout d'abord rapporté une forte fixation des DLIS aux protéines sériques. Par conséquent, ces DLIS sont généralement absentes dans l'ultrafiltrat du sérum, dépourvu de protéines. Ainsi, en exploitant la forte fixation des DLIS aux protéines plasmatiques et la médiocre fixation protéique de la digoxine (25%), les interférences positives et négatives dues aux DLIS dans le dosage de la digoxine sérique peuvent être totalement éliminées par mesure de celle-ci dans l'ultrafiltrat du sérum. L'ultrafiltrat de digoxine dépourvu de protéines plasmatiques, peut être préparé facilement en centrifugeant l'échantillon à raison de 1500 à 2000 g dans un dispositif d'ultrafiltration pendant 20 à 30 minutes. La digoxine n'étant liée qu'à 25% aux protéines, environ 75% de celle-ci se retrouve dans l'ultrafiltrat. Les trousse de dosage immunologique utilisées pour surveiller les concentrations de digoxine totale

présentent une sensibilité suffisante pour mesurer les concentrations de digoxine libre dans l'ultrafiltrat sérique. (45)

PARTIE II

PARTIE PRATIQUE



CHAPITRE I

MATERIEL & METHODE

Introduction

L'objectif principal de ce travail est de mesurer au cours du dosage de la digoxine la survenue d'interférences analytiques dues aux substances immunoréactives analogues à la digoxine dites « *Digoxin-Like Immunoreactive Substances* » chez les nouveau-nés, d'une part.

Nous avons également comparé la survenue d'interférences analytiques dues à la présence de DLIS lors du dosage de la digoxine par deux techniques de dosage qui sont distinctement : la méthode par interaction cinétique de microparticules en solution (*Kinetic Interaction Of Microparticles In Solution*) qu'utilise l'analyseur Cobas Integra 400+ (Roche®) avec la méthode par chimiluminescence de microparticules (*Chemiluminescent Microparticle Immuno-Assay*) utilisée par l'analyseur Architect i1000 (Abbott®), d'autre part.

Nous avons également étudié les facteurs de risque pouvant être incriminés dans la survenue de ces interférences chez les nouveau-nés, comprenant :

- Les facteurs liés à la gestation et à la période néonatale.
- Les facteurs métaboliques.

1. Type et période de l'étude

Il s'agit d'une étude **descriptive**, de type **transversal** portant sur les interférences analytiques potentiellement dues aux "DLIS" dans le dosage de la digoxine, sur une période de 03 mois, allant de Janvier 2019 à Mars 2019.

2. Population et lieu de l'étude

L'étude a ciblé une population de nouveau-nés pris en charge (consultation voire hospitalisation) au niveau du service de Néonatalogie du CHU NEDIR Mohammed de Tizi-Ouzou durant la période d'étude prédéfinie.

Les prélèvements sanguins des patients ont été analysés conjointement au niveau :

- Du Laboratoire de Biochimie du CHU NEDIR Mohammed de Tizi-Ouzou.
- Du Laboratoire de Toxicologie du CHU NEDIR Mohammed de Tizi-Ouzou.

2.1. Critères d'inclusion

Tout prélèvement sanguin de patient âgé de moins d'1mois (0-28jours), tous sexes confondus, pris en charge au niveau du service de Néonatalogie du C.H.U NEDIR Mohammed de Tizi-Ouzou durant la période d'étude prédéfinie.

2.2. Considérations éthiques

- Consentement du chef de service de Néonatalogie, des chefs de service respectifs des Laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du C.H.U NEDIR Med de Tizi-Ouzou.
- Respect de la clause de confidentialité.

2.3. Taille échantillonnale

La taille de l'échantillon est conditionnée par la durée de l'étude (03 mois).

3. Etape pré-analytique

3.1. Fiche d'enquête individuelle

Cette étude a été menée à l'aide d'une fiche d'enquête individuelle préétablie à partir des objectifs fixés de l'étude ; (**Annexe I**)

Les données ont été recueillies par **administration indirecte** (l'enquêteur remplit la fiche) en se référant aux :

- Dossiers colligés des patients ;
- Médecins traitants, le cas échéant.

Les variables d'intérêt étant préalablement définies.

Cette fiche s'est déclinée sous forme de plusieurs volets, à savoir :

- **Volet 1 : Identification**

- Traitant des données sociodémographiques :
- Numéro de dossier et code d'identification ;
- Nom, prénom ;
- Sexe, date et heure de naissance.

- **Volet 2 : Antécédents**

Antécédents personnels

- Poids à la naissance (Kg) ;
- Taille (cm) ;
- Age gestationnel (Semaines d'aménorrhée "SA") ;
- Type de grossesse ;
- Mode de délivrance ;
- Type d'alimentation :

Antécédents familiaux

Maternels

- Identification : Nom, Prénom et âge ;
- Médicaux chirurgicaux ;
- Gynéco-obstétricaux :
 - Nombre de parité ;
 - Pathologie(s) gravidique(s) ;
 - Traitement(s) instauré(s) au cours de la dernière grossesse (parité actuelle).
- Règles hygiéno-diététiques :

Alimentation : Consommation de tisanes et phytothérapie

- **Volet 3 : Clinique**

- Motif d'admission ;
- Traitement(s) instauré(s).

- **Volet 4 : Protocole thérapeutique spécifique**

Renseignements au sujet d'un éventuel traitement par la digoxine :

- Schéma thérapeutique préconisé ;
- Date de début et durée du traitement ;
- Manifestations cliniques au cours du traitement ;

- **Volet 6 : biologie**

- **Dosage de la digoxinémie**

- Numéro du prélèvement sanguin ;
- Date de réception du prélèvement ;
- Date d'analyse (dosage de la digoxine) ;
- Résultats de l'analyse des prélèvements par les deux méthodes (**ng/ml**).

- **Autres paramètres :**

- dosage de la bilirubinémie**

- Numéro du prélèvement sanguin ;
 - Date de réception du prélèvement ;
 - Date d'analyse ;
 - Résultats de l'analyse.

3.2. Moyens humains et matériels

3.2.1. Personnes ressources

- Trois étudiants en 6^{ème} année Pharmacie en fin de cycle ;
- Personnel du laboratoire de Biochimie du CHU de Tizi-Ouzou ;
- Personnel du laboratoire de Toxicologie du CHU de Tizi-Ouzou ;
- Personnel du service d'Epidémiologie du CHU de Tizi-Ouzou ;
- Personnel du service de Néonatalogie du CHU de Tizi-Ouzou.

3.2.2. Matériel de prélèvement

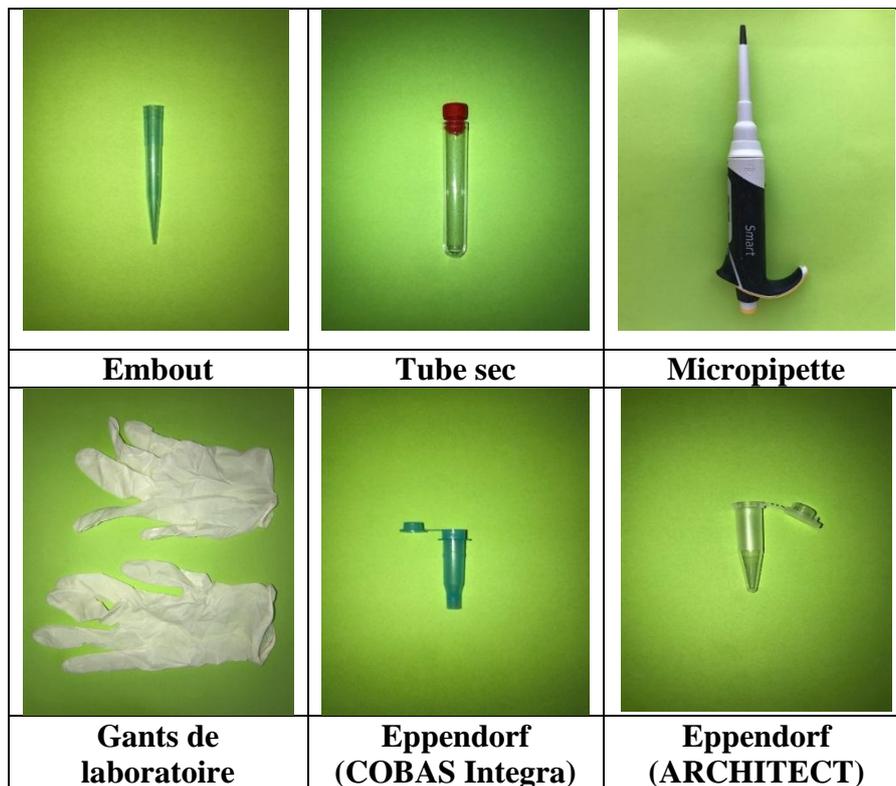
Les prélèvements sanguins sur les nouveau-nés ont été effectués au niveau du service de Néonatalogie par le personnel infirmier :

- Epicrâniennes ;

- Tubes d'héparinate de sodium ;
- Gants et garrot en plastique ;
- Alcool chirurgical à 90° et coton pour la désinfection ;
- Sparadrap ;
- Portoir ;

3.2.3. Matériel d'analyse

- Centrifugeuse de paillasse modèle ROTOFIX 32A ; (**Annexe II**)
- Micropipettes Accumax de 1000ul ;
- Réfrigérateur Condor NT460DV01 ;
- Automate de la marque ARCHITECT i1000 Abbott® ; (47) (**Annexe III**)
- Automate de la marque COBAS Integra 400+ plus Roche Diagnostics® ; (48) (**Annexe IV**)



Iconographie 1. Matériels consommables

3.2.3.1. Principe de la technique de dosage par Architect i1000 (CMIA)

Il s'agit d'un dosage immuno-analytique in-vitro par chimiluminescence de microparticules (CMIA : *Chemiluminescent Microparticle Immuno-Assay*) pour la mesure quantitative de la digoxine dans le sérum ou le plasma humain en une étape par compétition entre la digoxine

présente dans l'échantillon biologique et la digoxine marquée à l'Acridinium. Les microparticules recouvertes d'anticorps anti-digoxine se lient à la digoxine présente dans l'échantillon ainsi qu'au conjugué de digoxi-génine marqué à l'Acridinium. Après lavage, les solutions de pré-activation et d'activation sont ajoutées au mélange réactionnel.

L'échantillon, les microparticules paramagnétiques revêtues d'Ac anti-digoxine, le diluant de dosage, ainsi que le conjugué digoxi-génine marqué à l'Acridinium sont combinés pour créer un mélange réactionnel. Les microparticules enrobées d'Ac anti-digoxine se lient à la digoxine dans l'échantillon et au conjugué marqué digoxi-génine-Acridinium. Après lavage, des solutions de pré-activation et d'activation sont ajoutées au mélange réactionnel. La réaction chimiluminescente qui en résulte est mesurée en unités relatives de lumière (URL). Il existe une relation indirecte (inversement proportionnelle) entre la quantité de digoxine présente dans l'échantillon biologique et les URL détectées par le système optique de l'ARCHITECT *i* System.



Iconographie 2. Automate Architect i1000-laboratoire de Toxicologie de Tizi-ouzou unité NEDDIR Med.

3.2.3.2. Principe de la technique de dosage par Cobas Integra 400+ (KIMS)

Basé sur l'interaction cinétique de microparticules en solution (KIMS : *Kinetic interaction of microparticles in solution*) ; le test COBAS INTEGRA Digoxin est un dosage immunologique

homogène qui mesure les modifications de l'absorption ou de la diffusion de la lumière résultant de l'agrégation de microparticules activées. Les microparticules sont recouvertes de digoxine et s'agrègent rapidement en présence d'une solution d'Ac anti-digoxine. Lorsqu'un échantillon contenant de la digoxine est introduit, la réaction d'agrégation est partiellement inhibée, ce qui ralentit le processus d'agrégation. L'Ac lié à la digoxine de l'échantillon n'est plus disponible pour favoriser l'agrégation de microparticules, et la formation de réseaux de particules est ainsi inhibée. On obtient alors, une courbe d'inhibition classique en ce qui concerne la concentration en digoxine ; avec un taux d'agrégation maximal pour la concentration en digoxine la plus faible. En surveillant l'évolution de la lumière diffusée ou de l'absorbance, une courbe dépendante de la concentration est obtenue.



Iconographie 3. Automate COBAS Integra 400+ -laboratoire de Biochimie du CHU Tizi-Ouzou unité NEDDIR Med.

3.2.4. Matériels biologiques

- Plasma récupéré à partir de sang total veineux sur un tube hépariné.
- Réactifs de dosage

- Pour le COBAS Integra 400+ :

R1 Réactif Anticorps : anticorps (monoclonaux de souris) anti-digoxine dans un tampon conservateur.

R2 Réactif microparticules : microparticules recouvertes d'un dérivé de digoxine dans un tampon conservateur.



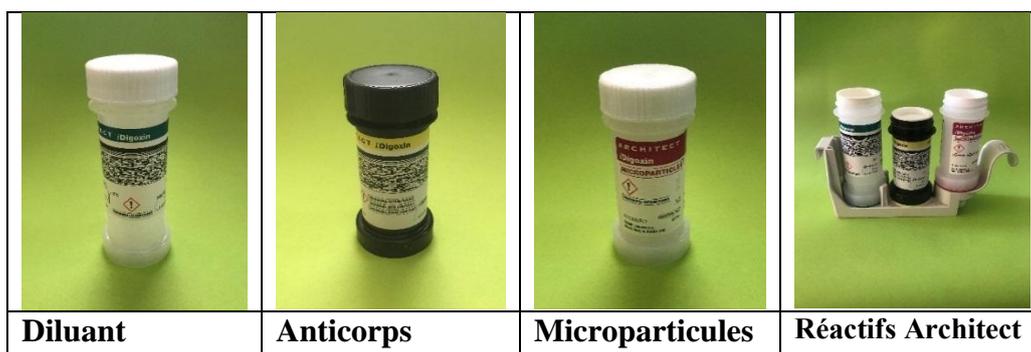
Iconographie 4. Réactif de dosage de la digoxine sur COBAS Integra 400+

- Pour l'Architect i1000 :

R1 Réactif microparticules : microparticules recouvertes d'anticorps anti-digoxine (monoclonaux de souris) dans du tampon conservateur.

R2 Réactif Anticorps : conjugué de digoxi-génine marqué à l'Acridinium dans du tampon citrate conservateur.

R3 Diluant : diluant de dosage.



Iconographie 6. Réactifs de dosage de la digoxine sur l'Architect i 100.

3.2.5. Autres consommables

- Papier blanc ;
- Micro-ordinateur ;
- Imprimantes.

3.3. Déroulement de l'étude

Une pré-enquête a été effectuée au niveau du service de Néonatalogie afin d'étudier la faisabilité de l'étude en fonction du profil des patients (motifs d'analyses biochimiques chez les nouveau-nés...);

Une autorisation écrite d'accès a été déposée auprès du médecin-chef du service de Néonatalogie du CHU NEDDIR Med de Tizi-Ouzou. (**Annexe V**)

Nous avons récupéré des prélèvements (sur tubes héparinés) de nouveau - nés, adressés pour motif de bilans biochimiques au Laboratoire d'Urgence de Biochimie du CHU de Tizi-Ouzou ; Le sang prélevé a été **centrifugé** afin d'éviter toute hémolyse et le plasma a été conservé à - 4°C (- 4° ; 0) au niveau du laboratoire de Biochimie ;

La collecte des prélèvements s'est étalée sur une période de 3 mois (Janvier à Mars 2019)

La fiche de renseignements a été dument remplie, sur la base des dossiers médicaux.

Le dosage de la digoxinémie dans le but de détecter des DLIS a été effectué conjointement, à raison de 15 échantillons par quinzaine au niveau :

- Du laboratoire de Biochimie du CHU de Tizi-Ouzou, sur COBAS Integra 400+ Roche®
- Du laboratoire de Toxicologie du CHU de Tizi-Ouzou, sur Architect i1000 Abbott®.

4. Étape analytique

Après vérification de la calibration ainsi que des niveaux de contrôle pour chaque automate, Les échantillons ont été lancés sur ARCHITECT i1000 Abbott® et sur COBAS Integra 400+ Roche®.

4.1. ARCHITECT i1000 (Abbott®)

4.1.1. La calibration

L'analyseur est fourni avec 6 calibrants dont les concentrations en digoxine dans du sérum humain sain sont les suivantes : **0 ; 0.5 ; 1 ; 2 ; 3** ainsi que **4 ng/ml**.

Pour effectuer une calibration, les calibrants doivent être chargés en position prioritaire. Une réplique de chaque niveau de contrôle doit être analysée afin de pouvoir évaluer la calibration du dosage. Il est nécessaire de s'assurer que les valeurs des contrôles du dosage se situent dans les limites de concentration spécifiées dans la notice des contrôles.

Plage de calibration : 0,0 à 4,0ng/ml.

Lorsque la calibration du dosage ARCHITECT *i*Digoxin est acceptée et mémorisée, tous les échantillons qui suivent peuvent être analysés sans qu'une nouvelle calibration soit nécessaire, sauf si :

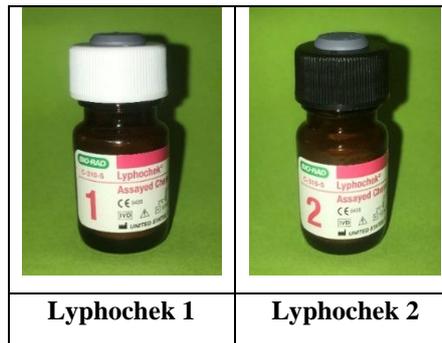
- Un kit de réactifs portant un nouveau numéro de lot est utilisé.
- Les valeurs des contrôles se situent en dehors des limites spécifiées.

4.1.1. Le contrôle qualité

Le contrôle de qualité recommandé pour le dosage ARCHITECT *i*Digoxin consiste à analyser un échantillon de chaque niveau de contrôle une fois toutes les 24 heures d'utilisation. Si les procédures du contrôle de qualité du laboratoire requièrent une utilisation plus fréquente des contrôles pour vérifier les résultats d'analyses, se conformer à ces exigences. Les contrôles supplémentaires peuvent être effectués conformément à la réglementation en vigueur ou aux exigences relatives à l'accréditation ainsi qu'aux exigences du laboratoire en matière de contrôle de qualité. Les valeurs des contrôles doivent se situer dans les limites acceptables spécifiées dans la notice des contrôles. Si les résultats d'un contrôle ne se situent pas dans ces limites, les résultats des échantillons analysés dans la même série ne sont pas valables et ces échantillons devront être ré-analysés. Une recalibration peut être nécessaire.

		
Cal. A 0.0ng/ml	Cal. B 0.5ng/ml	Cal. C 1.0ng/ml
		
Cal. D	Cal. E	Cal. F

2.0ng/ml	3.0ng/ml	4.0ng/ml
----------	----------	----------

Iconographie 7. Calibrants ARCHITECT *i*Digoxin.Iconographie 8. Controls Lyphocek ARCHITECT *i*Digoxin.

4.1.2. Calcul des résultats

Le dosage de la digoxinémie par Architect utilise une méthode de traitement des données par ajustement de la courbe logistique à 4 paramètres pour créer une courbe de calibration.

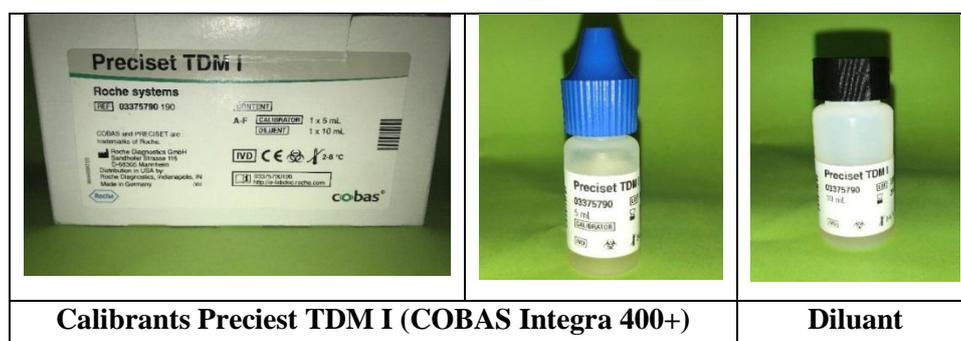
4.2. COBAS Integra 400+ (Roche Diagnostics®)

4.2.1. La calibration

L'analyseur est fourni avec 6 calibrants dont les concentrations en digoxine dans du sérum humain sain sont les suivantes : **0 ; 0.5 ; 1 ; 2 ; 3** ainsi que **5** ng/ml.

La calibration doit se faire à chaque changement de lot de réactifs, tous les 60 jours et si sur exigence du contrôle de qualité (résultats des contrôles en dehors des limites de confiance définies).

Une courbe de calibration doit être réalisée à l'aide de ces calibrants. Elle est mémorisée par l'analyseur. Les calibrants doivent être dosés dans les 2 heures suivant leur mise en place sur l'analyseur.



Iconographie 9. Calibrants Preciest TDM I pour COBAS Integra 400+ (Roche Diagnostics®)

4.2.2. Le contrôle qualité

Un contrôle de qualité doit être effectué toutes les 24 heures, subséquentement à la calibration. La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire d'analyse. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire d'analyse devra établir la procédure à suivre si les résultats obtenus se situent en dehors de ces limites.

Les contrôles doivent être dosés dans les 2 heures suivant leur mise en place sur l'analyseur.



Iconographie 10. TDM Contrôles

4.2.3. Calcul des résultats

A l'issue du dosage, l'analyseur calcule automatiquement le changement d'unités d'absorbance de la réaction mise en jeu dans la cuvette réactionnelle. Après avoir calculé les valeurs respectives pour les six calibrateurs, le système établit la courbe d'ajustement optimal pour ces calibrateurs par l'analyse de régression non-linéaire.

La concentration en analyte de chaque échantillon est ensuite déterminée à partir de cette courbe et de la valeur mesurée correspondante.

Mode de mesure : Absorbance.

Longueur d'onde : 652nm.

Domaine de mesure : 0.13 – 5 ng/ml (0.17 - 6.4 nmol/l).

Unité :ng/ml.

5. Limites d'utilisation et interférences

L'analyseur transmet un signal afin de déclarer les échantillons présentant des concentrations supérieures au calibrant dont la concentration en digoxine est la plus élevée.

Dans ce cas, pour obtenir la concentration de l'échantillon en digoxine, il est nécessaire de diluer manuellement l'échantillon initial à l'aide du calibrant 0 ng/ml de digoxine ou à en ayant recours au diluant fourni et de refaire ensuite l'analyse. Le résultat obtenu doit alors être multiplié par le facteur de dilution approprié pour fournir la concentration de l'échantillon en analyte. Comme pour tous les tests immunologiques de détermination de la digoxinémie, le traitement aux anticorps anti-digoxine (DIGIBIND), administré en cas d'intoxication à la digoxine, interfère avec le dosage de celle-ci.

Comme pour tous les tests utilisant des anticorps monoclonaux de souris, les échantillons contenant des anticorps humains anti-souris peuvent fournir des résultats erronés. Les échantillons susceptibles de contenir ces anticorps (sujets ayant été exposés aux anticorps monoclonaux de souris : sérum de travailleurs en contact avec les animaux, de patients sous anticorps monoclonaux pour le traitement ou l'imagerie...) doivent être analysés à l'aide d'une autre méthode. Les échantillons dont les concentrations sont supérieures à **25.2 mg/dl** en bilirubine (ictère), à **2670 mg/dl** en triglycérides (lipémie), à **14 g/dl** en protéines totales et/ou à **20.0 g/l** en hémoglobine (hémolyse) doivent être dilués à l'aide du calibrant 0ng/ml avant l'analyse. Le résultat obtenu est ensuite multiplié par le facteur de dilution idoine.

6. Indicateurs de l'étude

La surveillance des taux sériques ou plasmatiques de digoxine est nécessaire à cause de l'index thérapeutique étroit de ce médicament et la survenue, parfois inaperçue de symptômes de surdosage. Les concentrations plasmatiques thérapeutiques recommandées étant approximativement comprises, selon la pratique clinique ; entre **0,8 et 2 ng/ml**, on considère que la toxicité se manifeste généralement pour des concentrations supérieures à 2,0ng/ml, mais il convient de se rappeler qu'il s'agit d'un seuil relativement arbitraire.

En fonction de la population examinée, chaque laboratoire d'analyse doit vérifier la validité de ces normes, et établir au besoin, ses propres domaines de référence.

7. Taux de détectabilité des DLIS

Nombre de nouveau-né dont le dosage est supérieur (>) seuil de détectabilité des DLIS selon le [Cobas (48) et/ou Architect(47)] x100 rapporté au nombre de nouveau-nés inclus dans l'étude durant la période prédéfinie

- Seuil de détectabilité des DLIS par Cobas : <**0.30 ng/ml**.
- Seuil de détectabilité des DLIS par Architect : <**0.10 ng/ml**.

8. Arguments décisionnels

La bilirubinémie est reconnue pour interagir avec le dosage analytique de la digoxinémie sur analyseur COBAS Integra 400+ (KIMS) à partir d'un taux de bilirubine indirecte de 252 mg/l.

Selon les normes du laboratoire de biochimie du C.H.U de Tizi-Ouzou, on considère l'hypokaliémie pour un taux inférieur à 3.5 mmol/l.

Ce travail se réfère pour la définition du critère de prématurité de la gestation aux normes de l'**Institut National de la Santé Et de la Recherche Médicale** qui estime trois niveaux de prématurité :

- **Prématurité moyenne** correspondant à une naissance **entre la 32e et la 36e SA.**
- **Grande prématurité** correspondant à une naissance **entre la 28e et la 32e SA.**
- **Très grande prématurité** pour les naissances **avant 28 SA.**

9. Analyse et exploitation des données

Après contrôle des données, la saisie ainsi que l'analyse ont été effectuées au moyen du logiciel SPSS –IBM version 22 et de l'Excel version 2007 et 2016 et le logiciel Open Epi.

Les données sont déclinées sous forme de variables qualitatives (catégorielles) et de variables quantitatives :

9.1.Définition des variables :

Variable qualitative	Modalités
1. Sexe	<ul style="list-style-type: none"> • Masculin / féminin
2. Maturité gestationnelle	<ul style="list-style-type: none"> • Oui / Non
3. Degré de prématurité [INSERM]	<ul style="list-style-type: none"> • > 37S.A • 28-32 S.A • 32-36S.A
4. Retard de croissance intra-utérine (RCIU) [Classification de Lubchenco] (Annexe VI)	<ul style="list-style-type: none"> • < P10 • P10 - P90
5. mode de délivrance	<ul style="list-style-type: none"> • Voie haute • Voie basse

6. Nombre de parité	<ul style="list-style-type: none"> • Multiple • Unipare
7. Type d'alimentation	<ul style="list-style-type: none"> • Maternel • Artificiel • Mixte • Non précisé.
8. Antécédents maternels	<ul style="list-style-type: none"> • Oui • Non
9. Types d'antécédents maternels	Classification Types de pathologies : CIM-10 Chapitres : I à XXI (Annexe VII)
10. Motif d'admission du nouveau-né :	Classification par types de pathologies : CIM-10 Chapitres : I à XXI (Annexe VII)
11. Traitement (s) instaurés (s)	Classification par classes thérapeutiques
12. Taux de détectabilité des DLIS	<ul style="list-style-type: none"> • Seuil de détectabilité =0.30ng/ml (Cobas) [(48)] • Seuil de détectabilité =0.10ng/ml (Architect) [(47)]

Variable quantitative	Modalités
1. Age (jours)	<ul style="list-style-type: none"> • Moyenne / Médiane / Q1/ Q3 • Min / Max • P75
2. Poids de naissance (Kg)	<ul style="list-style-type: none"> • Moyenne / Médiane / Q1/ Q3 • Min / Max • P75
3. Age gestationnel (SA)	<ul style="list-style-type: none"> • Moyenne / Médiane / Q1/ Q3 • Min / Max • P75
4. dosage des DLIS (ng/ml)	<ul style="list-style-type: none"> • Moyenne / Médiane / Q1/ Q3 • Min / Max • P75
4. Bilirubine indirecte (mg/l)	<ul style="list-style-type: none"> • Moyenne / Médiane / Q1/ Q3 • Min / Max • P75
5. Kaliémie (mmol/l)	<ul style="list-style-type: none"> • Moyenne / Médiane / Q1/ Q3 • Min / Max • P75

Facteurs de risque	Modalités
Age	<4 jours / >4 jours
Sexe	Masculin / Féminin
RCIU	Oui / Non
Maturité de la gestation	Prématurité / A terme
Mode de délivrance	Haute / Basse
Type de grossesse	Gémellaire / Mono fœtal
Parité chez la mère	Multipare / Primipare
Alimentation	Artificiel / Maternel exclusif
ATCD maternels	Oui / Non
Morbidité du nouveau-né	Oui / Non
Interférence médicamenteuse	Oui / Non
Taux de bilirubine	Taux d'interférence
Kaliémie	Perturbée / Normale

- Pour les variables quantitatives, nous avons calculé les moyennes \pm leurs écarts-types ($m \pm \sigma$), les médianes, les valeurs minimales et maximales, 1^{er} et 3^{ème} quartiles.

- Pour les variables qualitatives, nous avons calculé les pourcentages (%) et les d'effectifs (**n**)

- La comparaison des pourcentages s'est appuyée sur le test du Khi- deux (χ^2) **de Pearson** et le test exact de Fisher en ce qui concerne les variables qualitatives, et sur le test du Khi- deux (χ^2) **de Mc Nemar** ... pour la comparaison de deux pourcentages sur séries appariées.

Le risque α consenti est de 5%.

-Le calcul du risque quantifiant l'association exposition (facteurs de risque) et le critère de jugement (détection des DLIS) a été faite à partir de l'Odds Ratio (OR) et son intervalle de confiance [IC à 95%].

CHAPITRE II

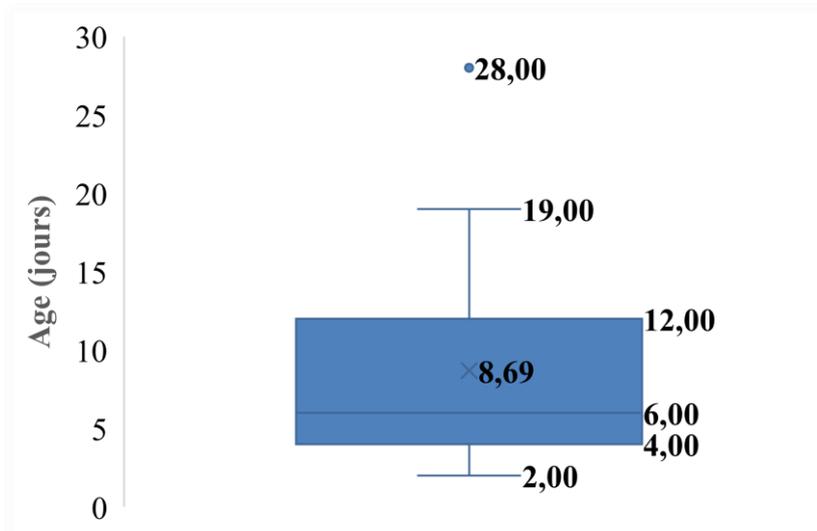
RESULTATS

1. Description de la population de l'étude

Au total, 35 nouveau-nés ont été inclus dans l'étude.

1.1. Age

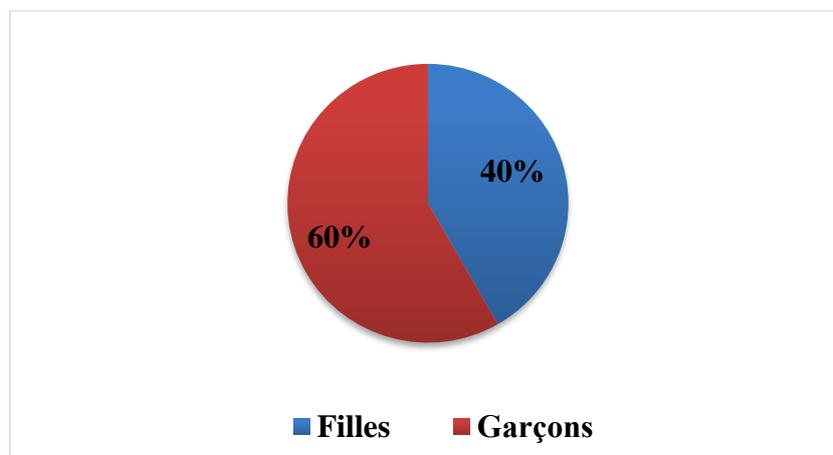
L'âge moyen des patients est de 8.69 ± 6.89 jours allant de **2 à 28 jours** ; **75%** des patients sont âgés de moins de **12 jours**. (Graphe 1)



Graphe 1. Répartition de la population d'étude selon l'âge - laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du C.H.U de Tizi Ouzou-Janvier à Mars 2019.

1.2. Sexe

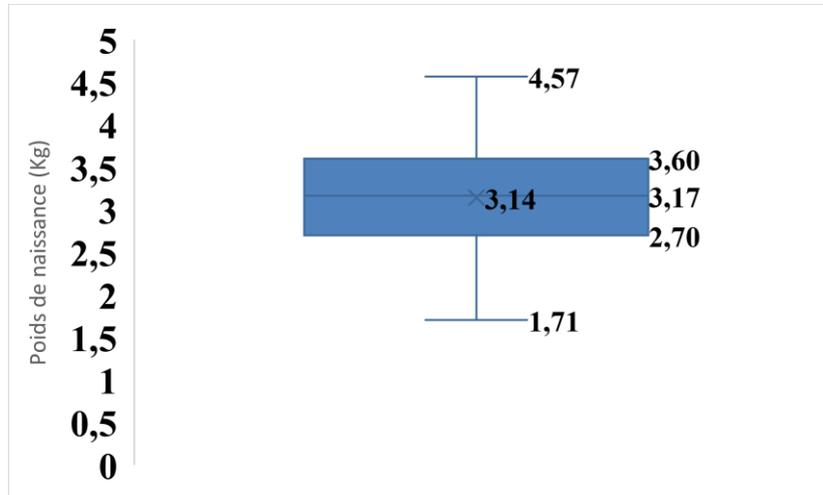
Vingt et un (21) patients sont de sexe masculin (**60%**), avec un sex-ratio de **1.5** (Graphe 2).



Graphe 2. Répartition de la population selon le sexe - laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du C.H.U de Tizi Ouzou-Janvier à Mars 2019.

1.3. Poids de naissance

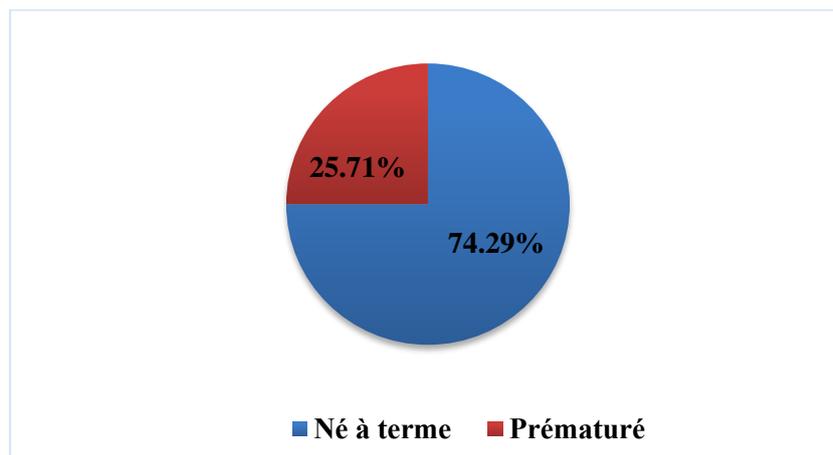
Le poids moyen de naissance des patients est de 3.14 ± 0.73 Kg allant de 1.71 à 4.57 Kg ; 75% des patients ont pesé moins de 3.60 Kg. (Graphe 3).



Grphe 3. Répartition de la population selon le poids de naissance - laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du C.H.U de Tizi Ouzou-Janvier à Mars 2019.

1.4. Maturité de la gestation

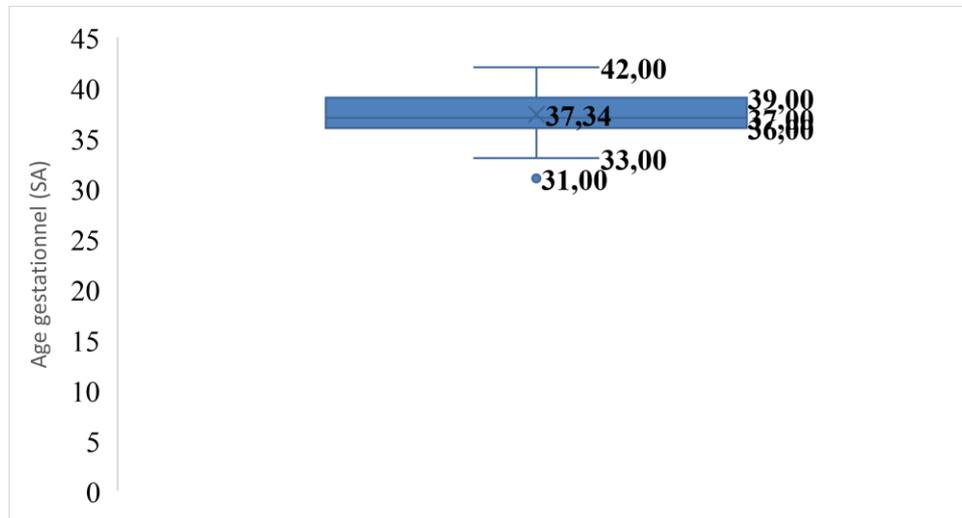
Dans notre série, 74.29% (n= 26) des patients sont nés à terme. (Graphe 4)



Grphe 4. Répartition de la population de l'étude selon la maturité de la grossesse - laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du C.H.U de Tizi Ouzou-Janvier à Mars 2019.

1.5. Age gestationnel

Dans notre série, les nouveau-nés sont issus de grossesse dont l'âge gestationnel **moyen** est de **37.34 ± 2.25 SA**, allant de **31 à 42 semaines d'aménorrhée (SA)**, dont **75%** des grossesses ayant évolué jusqu'à **39 SA**. (Graphe 5)

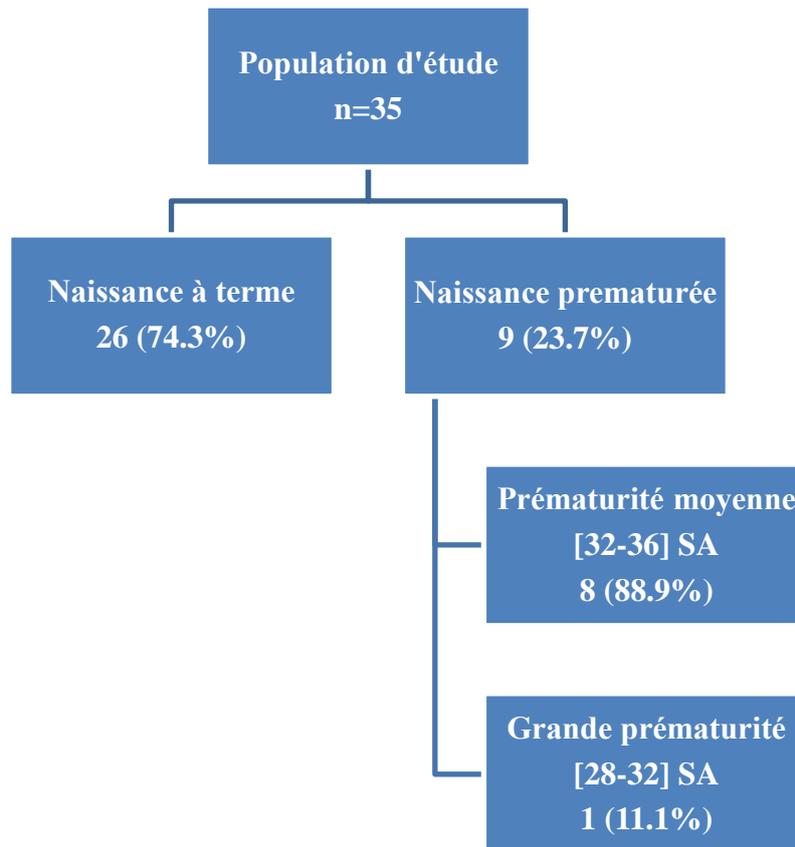


Grappe 5. Répartition de la population de l'étude selon l'âge gestationnel-laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du C.H.U de Tizi Ouzou-Janvier à Mars 2019.

1.6. Prématurité

Un **quart (23.7%)** de notre population sont nés prématurément, dont :

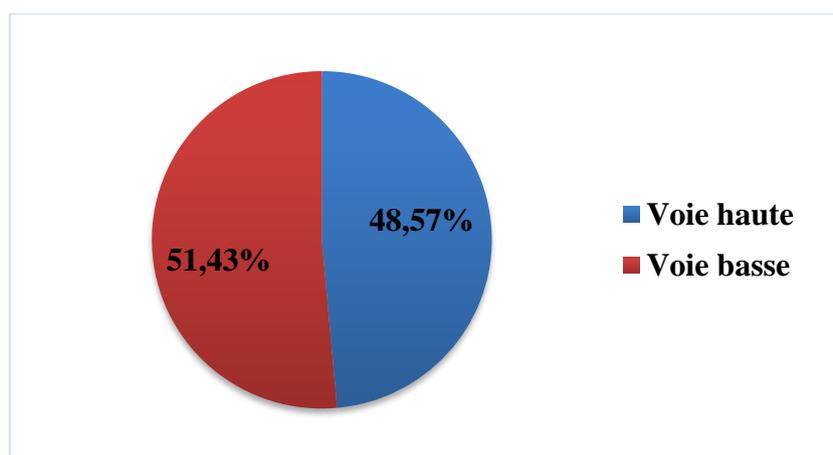
- Grande prématurité (**11.11%**) ;
- Prématurité moyenne (**88.9%**). (Organigramme 1)



Organigramme 1. Répartition de la population de l'étude selon La prématurité - laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du CHU de Tizi Ouzou-Janvier à Mars 2019.

1.7. Mode de délivrance

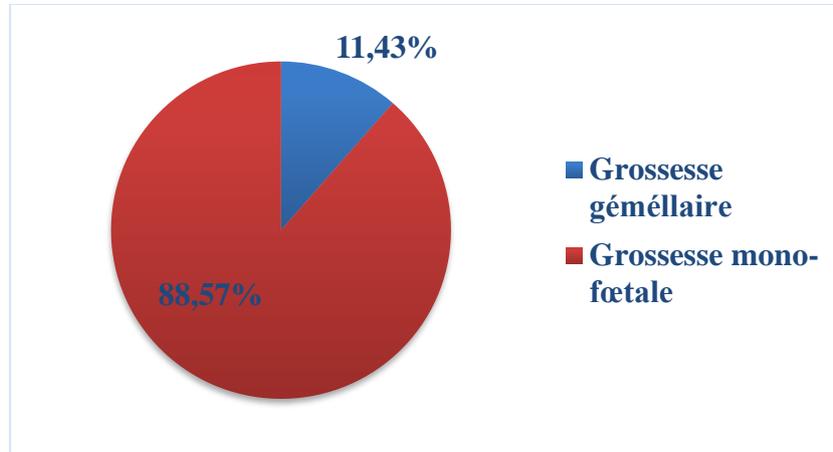
Sur l'ensemble des patients, **18** sont nés par voie basse (**51.43%**). (**Graphe 6**)



Graphe 6. Répartition de la population d'étude selon le mode de délivrance - laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du CHU de Tizi Ouzou-Janvier à Mars 2019.

1.8. Type de grossesse

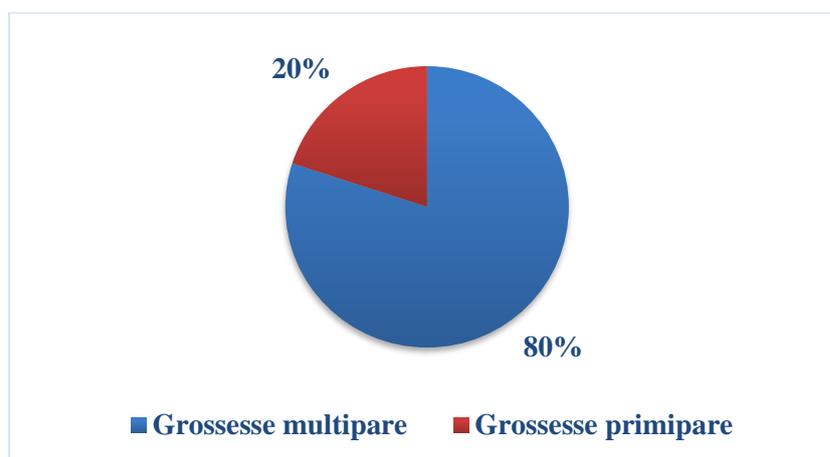
Dans notre série, **11,43%** (n=4) de la population est né à l'issue d'une grossesse gémellaire. (Graphe 7)



Grappe 7. Répartition de la population de l'étude selon le type de grossesse - laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du CHU de Tizi Ouzou-Janvier à Mars 2019.

1.9. Parité chez la mère

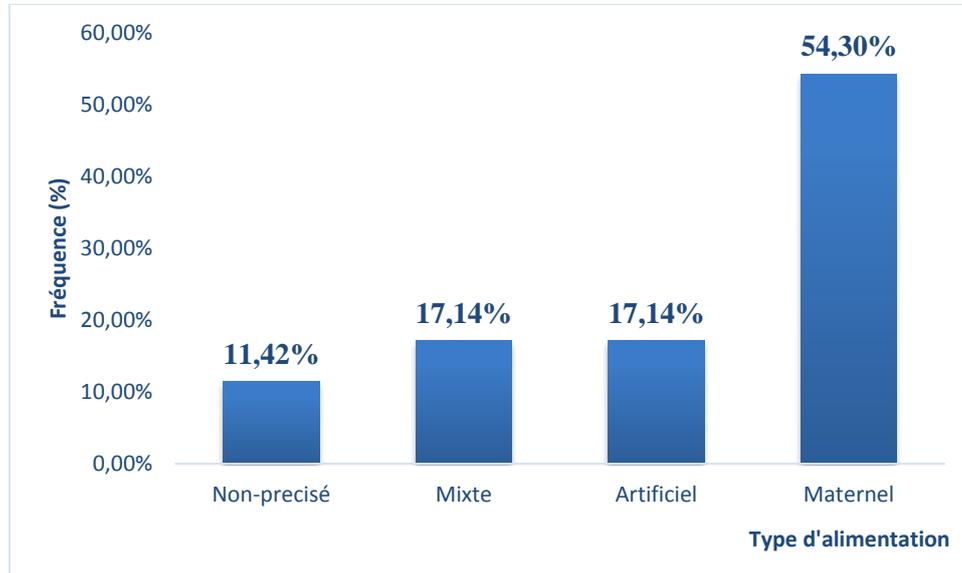
Quatre-vingt (80%) des nouveau-nés (n=28) de notre étude, sont nés de mères multipares. (Graphe 8)



Grappe 8. Répartition de la population selon la parité de la grossesse - laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du CHU de Tizi Ouzou-Janvier à Mars 2019.

1.10. Type d'alimentation

54.30% (n=19) de la population de l'étude a reçu une alimentation exclusivement maternelle. (Graphe 9)



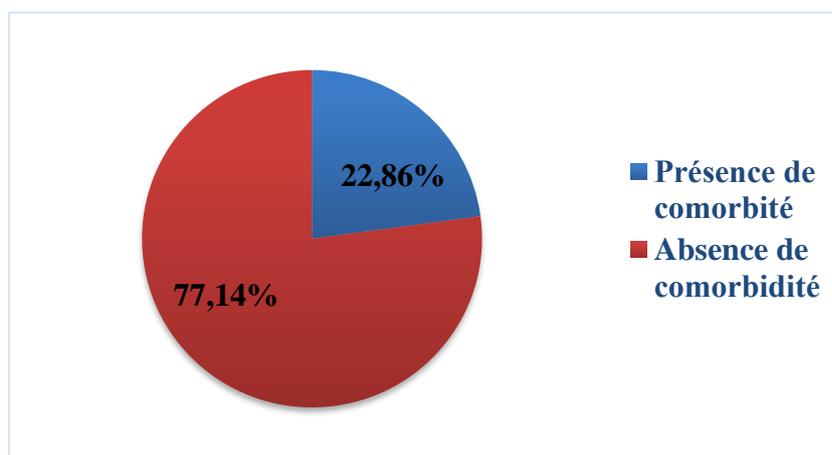
Grappe 9. Répartition de la population étudiée selon l'alimentation reçue - laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du CHU de Tizi Ouzou-Janvier à Mars 2019.

1.11. Morbidité

1.11.1. Comorbidités maternelles

Les mères des nouveau-nés étudiés ont été exemptes de comorbidités dans **77.14% (n=27)** des cas ; Toutefois, nous avons enregistré :

- Une atteinte de la glande thyroïdienne avec ou sans dysthyroïdie (**11.42%**) ;
- De l'hypertension artérielle (**2.86%**) ;
- De la polyarthrite rhumatoïde (**2.86%**). (Graphe 10 ; Tableau I)



Graphique 10. Répartition de la population d'étude selon la notion de comorbidités maternelles préexistantes – laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du CHU de Tizi Ouzou-Janvier à Mars 2019.

Tableau I. Répartition de la population d'étude selon les comorbidités maternelles préexistantes* – Laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du C.H.U de Tizi-Ouzou – Janvier à Mars 2019.

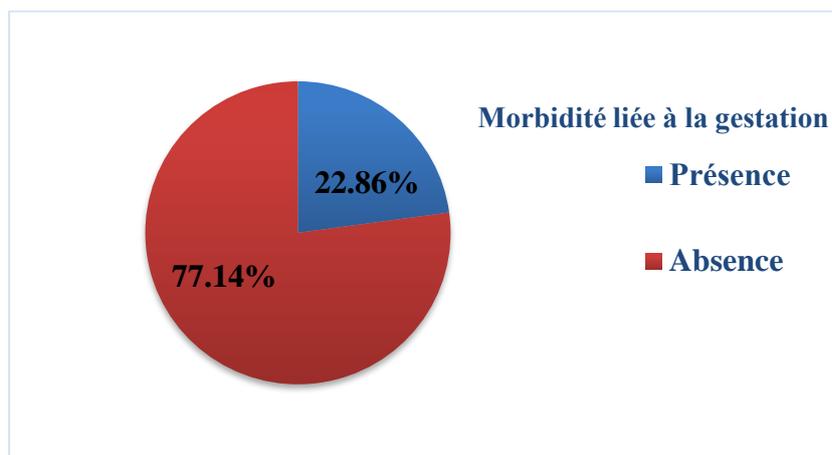
Chapitres	Codes	Pathologies	Effectif (N)	Pourcentage (%)
Sans antécédents			27	77.14
IV	E10	Diabète insulino-dépendant	+ 1	2,86
	E03.9	Hypothyroïdie		
IV	E03.9	Hypothyroïdie	3	8,56
IV	E04.9	Goitre	1	2,86
IX	I11.9	Hypertension artérielle	1	2,86
XIII	M06.9	Polyarthrite rhumatoïde	1	2,86
XI	K27	Ulcère gastrique	1	2,86
Total			35	100

*Classification Statistique Internationale des Maladies et des Problèmes de Santé Connexes « CIM10 » - Organisation Mondiale de la Santé – Dixième Révision-1993.

1.11.2. Morbidité liée à la gestation

Sur la totalité de la série étudiée, **22.86% (n=8)** des nouveau-nés sont nés de mères ayant présenté des affections durant la grossesse, en particulier :

- Un diabète gestationnel dans **11.42%** des cas (**n=4**) ;
- Un état éclamptique dans **2.86%** des cas (**n=1**). (**Grappe 11 - Tableau II**)



Grappe 11. Répartition de la population de l'étude selon la notion de **morbidité liée à la gestation** - Laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du CHU de Tizi Ouzou-Janvier à Mars 2019.

Tableau II. Répartition de la population d'étude selon le type de **morbidité liée à la gestation*** – Laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du C.H.U de Tizi-Ouzou – Janvier à Mars 2019.

Chapitre	Sous-chapitres	Pathologies	Effectif (N)	Pourcentage (%)
			27	77.14
	O24.9	Diabète gestationnel	4	11.42
	O15.9	Eclampsie	1	2.86
XV	O99.2	Hypothyroïdie	1	2.86
	O23.9	Infection à <i>Escherichia coli</i>	1	2.86
	O12.1	Hyperprotéinurie	1	2.86
Total			35	100

2. Caractéristiques cliniques

2.1. Motif d'hospitalisation

Les affections hémorragiques et hématologiques ont constitué **48.57%** des motifs de consultation voire d'hospitalisation, représentées par l'ictère. (**Tableau III**)

Tableau III. Répartition de la population d'étude selon le motif d'hospitalisation* – Janvier à Mars 2019- Laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du C.H.U de Tizi-Ouzou.

Chapitre	Sous-chapitre	Pathologies	Effectif (n)	Pourcentage (%)
	P00-P96			
XVI	P20-P29	Affections respiratoires et cardiovasculaires spécifiques de la période périnatale	n=8	22,86
	P22.9	Détresse respiratoire, sans précision	5	14.28
	P29.9 et P28.9	Affections respiratoires chez le n-né, associée à une affection cardiovasculaire	1	2.86
	P28.9	Affections respiratoires chez le nouveau-né	2	5.71
XVI	P35-P39	Affections spécifiques de la période périnatale	n=3	8,57
	P39.4	Infection néonatale de la peau	1	2.86
	P39.8	Infections spécifiques précisées de la période périnatale	1	2.86
	P39.9	Infections de la période périnatale, sans précision	1	2.86
XVI	P50-P61	Affections hémorragiques et hématologiques du fœtus et du n-né	n=17	48,57
	P55.9	Maladie hémolytique du fœtus et du nouveau-né, sans précision	1	2.86
	P58.2	Ictère néonatal dû à une infection	2	5.71
	P58.8	Ictère néonatal dû à d'autres hémolyses excessives précisées	1	2.86
	P59.0	Ictère néonatal associé à un accouchement avant terme	2	5.71
	P59.8	Ictère néonatal dû à d'autres causes	1	2.86

		précisées		
	P59.9	Ictère néonatal, sans précision	7	20.00
	P59.9 et P22.9	Détresse respiratoire associé à Ictère néonatal	2	5.71
	P59.9 et P29.9	Affection cardiovasculaire associé à Ictère néonatal	1	2.86
XVI	P70-P74	Anomalies endocriniennes et métaboliques transitoires spécifiques du fœtus et du n-né	n=1	2,86
	P74.1	Déshydratation du nouveau-né	1	2.86
XVI	P90-P96	Autres affections dont l'origine se situe dans la période Périnatale	n=2	5,71
	P90.0	Convulsion du nouveau-né	1	2.86
	P59.9 et P96.0	Ictère néonatal sur insuffisance rénale	1	2.86
XVI	P05-P08	Anomalies liées à la durée de la gestation et à la croissance du fœtus	n=3	8,57
	P05.9 et P39.9	Infection néonatale associée à une croissance lente sans précision	2	5.71
	P07.3	Retard de croissance intra-utérine sur prématurité	1	2.86
XVIII	R50-R69	Symptômes et signes généraux	n=1	2,86
	R57.9	Choc sans précision	1	2.86
Total			35	100

*Classification Statistique Internationale des Maladies et des Problèmes de Santé Connexes « CIM10 » -Organisation Mondiale de la Santé – Dixième Révision-1993

2.1. Traitement(s) instauré(s)

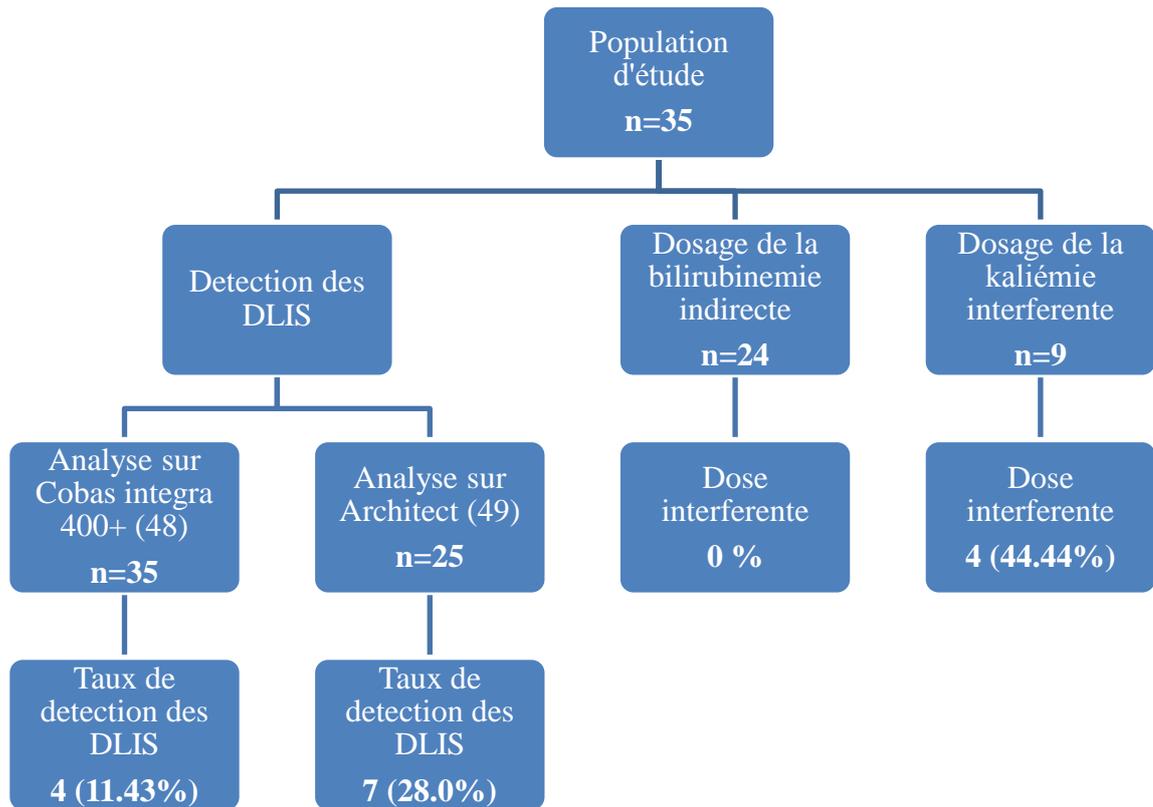
Des traitements ont été instaurés chez les nouveau-nés étudiés dans **94.29% (n =33)** des cas. (Tableau IV)

Tableau IV. Répartition de la population de l'étude selon le traitement administré aux nouveau-nés – Laboratoires de toxicologie du C.H.U de Tizi-Ouzou – Janvier à Mars 2019.

Classe thérapeutique	Fréquence	Potentielle interaction médicamenteuse
Compléments*	16	
Photothérapie	9	
CAFEINE stimulant	3	
Anti histaminique	6	
Antibiotiques	21	JOSACINE® (n=2) 9.52%
Analgésiques et antipyrétiques	1	
Diurétique hypokaliémiant	3	LASILIX® (n=1) 33.33%
Catécholamines	1	
Anti-inflammatoire stéroïdiens	2	
Inhibiteurs de l'enzyme de conversion	1	
Anticonvulsivants	1	
Lévothyroxine	1	

* : Vit. K, Calcium, Fer, Biotine, Pyridoxine, Folate de calcium.

3. Caractéristiques biologiques



Organigramme 2. Répartition de la population d'étude selon les paramètres biologiques – Laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du C.H.U de Tizi-Ouzou – Janvier à Mars 2019.

3.1. Fréquence de détection des DLIS sur COBAS Integra 400+

La fréquence de détection de DLIS dans notre population d'étude est estimée à **11.43%** avec un intervalle de confiance de **0.89% à 21.97%**. (Tableau V)

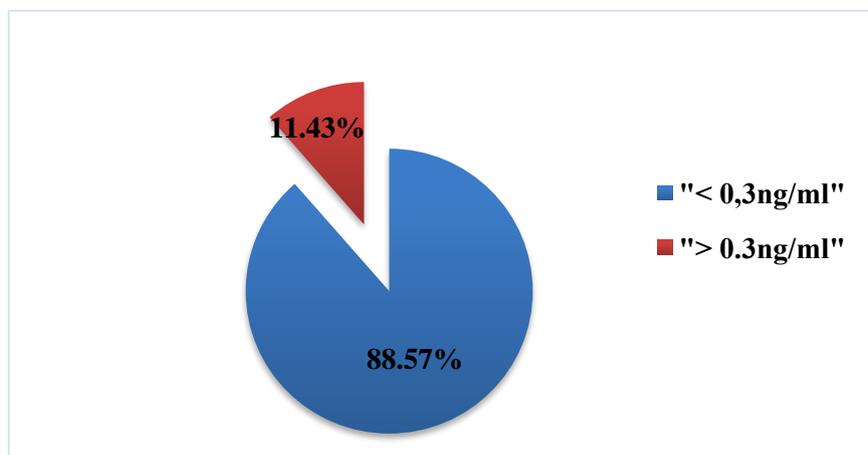
Tableau V. Fréquence de détection des DLIS dans la population d'étude (les nouveau-nés) par l'analyseur COBAS Integra 400+ (48)– Laboratoires de Biochimie et de Toxicologie du CHU de Tizi-Ouzou – Janvier à Mars 2019.

Effectif	Effectif	Fréquence (%)	IC à 95%
35	4	11.43%	0.89% – 21.97%

3.2. Dosage des DLIS selon deux analyseurs (COBAS Integra 400+ et Architect)

- Analyseur COBAS Integra 400+ (Roche®)

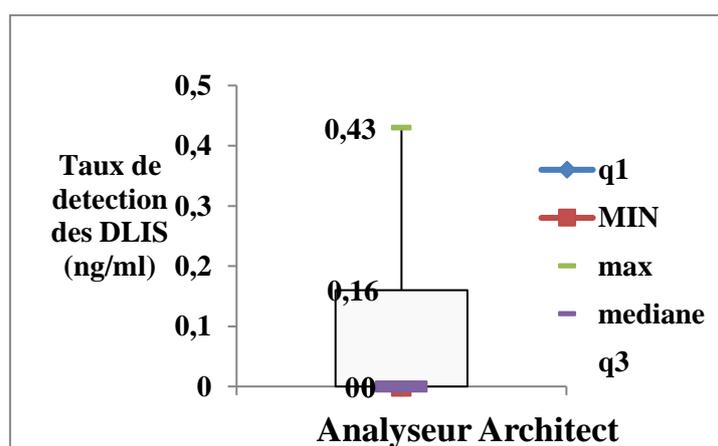
Chez 31 nouveau-nés (88.57%), le taux de DLIS est inférieur à 0.3 ng/ml. (Graphe 12)



Graphe 12. Dosage des DLIS sur l'analyseur COBAS Integra 400+ - Laboratoires de Biochimie et Toxicologie du CHU de Tizi-Ouzou – Janvier à Mars 2019.

- Analyseur ARCHITECT i1000 (Abbott®)

Le taux moyen des DLIS mesuré chez 25 nouveau-nés étudiés sur Architect i1000 a été estimé à 0.06 ± 0.099 ng/ml, allant de 0 ng/ml à 0.43 ng/ml. (Graphe 13)



Graphe 13. Dosage des DLIS sur l'analyseur ARCHITECT i1000 - Laboratoires de Biochimie et Toxicologie du CHU de Tizi-Ouzou – Janvier à Mars 2019.

- **Comparaison de la fréquence de détection des DLIS par les deux analyseurs**

En termes de détection des DLIS par les deux analyseurs COBAS Integra 400+ (Roche®) et ARCHITECT i1000 (Abbott®), les fréquences de détection ne diffèrent pas significativement ($p= 0.32$, DNS) (Tableau VI)

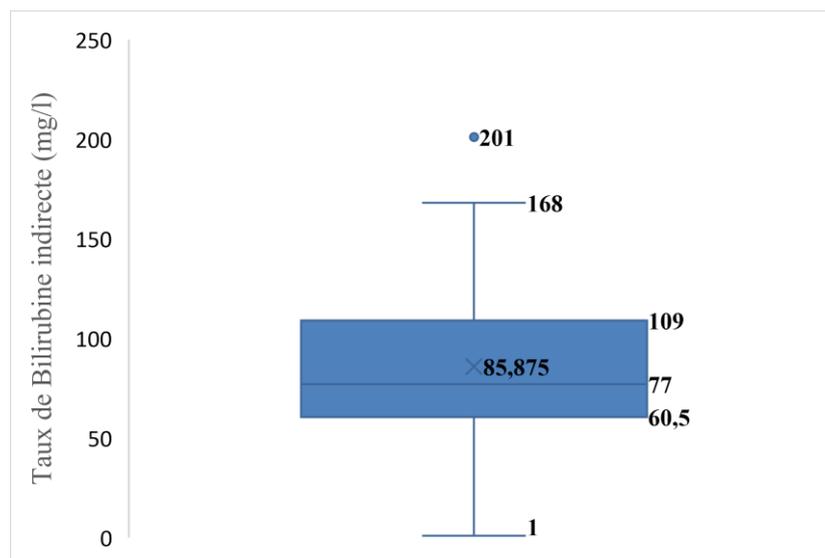
Tableau VI. Fréquence de détection des DLIS chez les nouveau-nés selon COBAS Integra 400+ (Roche®) et ARCHITECT i 1000 (Abbott®) (47)– Laboratoires de Biochimie et Toxicologie du CHU de Tizi-Ouzou – Janvier à Mars 2019.

Analyseurs	Effectif (n)	Détection des DLIS (%)	P value
COBAS Integra 400+	25	3 (12%)	$p= 0.32$,
ARCHITECT i1000	25	6 (24%)	DNIS

3.3. Autres paramètres biologiques

3.3.1. Taux de bilirubine indirecte

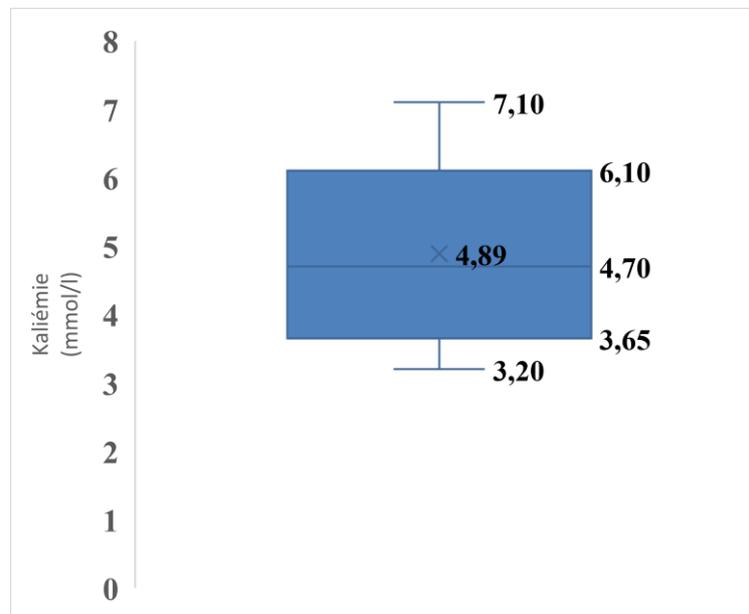
Les nouveau-nés étudiés ont présenté un taux moyen de bilirubine indirecte de 85.87 ± 44.46 mg/l allant de 1 mg/l jusqu'à 201 mg/l ; 75% d'entre eux présentent un taux égal à 109 mg/l de bilirubine indirecte. (Graphe 14)



Graphe 14. Répartition de la population selon le taux de bilirubine indirecte - Laboratoires de Biochimie et Toxicologie du C.H.U de Tizi-Ouzou – Janvier à Mars 2019.

3.3.2. Kaliémie

La population étudiée présente une kaliémie moyenne de 4.89 ± 1.37 mmol/l, allant d'une valeur minimale de **3.20 mmol/l** à une valeur maximale de **7.10 mmol/l**, **75%** présente un taux de **6.10 mmol/l**. (**Grappe 15**)



Grappe 15. Répartition de la population de l'étude selon la kaliémie - Laboratoires de Biochimie et Toxicologie du CHU de Tizi-Ouzou – Janvier à Mars 2019.

4. Facteurs de risque de survenue de l'interférence selon la technique KIMS sur analyseur COBAS intégra 400+ (Abbott®)

Aucun facteur étudié dans notre série n'a été identifié comme interférent dans la production des DLIS chez le nouveau-né. (**Tableau VII**)

Tableau VII. Facteurs de risque de survenue de l'interférence selon la technique KIMS sur analyseur COBAS intégra 400+ (Abbott®)

Facteur	Effectif	Détectabilité DLIS	OR IC à 95%	<i>p</i> value
Age				
<4 jours	12	2	2.10	0.59
>4 jours	23	2	[0.25-17.14]	
Sexe				
• Masculin	21	2	0.63	1

• Féminin	14	2	[0.07-5.1]	
RCIU				
• Oui	3	0	0.9	0.91
• Non	32	4	[0.04 – 20.6]	
Maturité de la gestation				
• Prématurité	9	2	3.43	0.26
• A terme	26	2	[0.41 – 28.94]	
Mode de délivrance				
• Haute	17	1	0.31	0.6
• Basse	18	3	[0.03 – 3.34]	
Type de grossesse				
• Gémellaire	4	0	0.68	0.99
• Mono fœtale	31	4	[0.03 – 14.88]	
Parité chez la mère				
• Multipare	28	4	0.36	0.99
• Primipare	7	0	[0.017 -7.54]	
Alimentation				
• Artificiel	13	2	1.45	1
• Maternel exclusif	18	2	[0.18 – 11.94]	
ATCD maternels				
• Oui	13	1	1.89	1
• Non	22	3	[0.17 – 20.36]	
Morbidité du nouveau-né				
• Oui	6	0	0.44	0.99
• Non	29	4	[0.02 – 9.17]	
Interférence médicamenteuse				
• Oui	5	1	0.44	0.47
• Non	30	3	[0.04 - 5.38]	
Taux de bilirubine				
Taux d'interférence	35	0		

Kaliémie

• Perturbée	4	1	1.33	0.99
• Normale	5	1	[0.06 – 31.12]	

Tableau VIII. Principaux résultats de l'étude - Laboratoires de Biochimie et Toxicologie du C.H.U de Tizi-Ouzou – Janvier à Mars 2019

Paramètre	Effectif	Pourcentage %
N	35	100
▶ Age	8.69 ±6.89jours	
▶ Sexe	21♂ /14♀	Sex-ratio= 1.5
▶ Poids de naissance	3.14 ± 0.73 Kg	
▶ Maturité de la gestation		
Prématuré	9	25.71
Né à terme	26	74.29
▶ Age gestationnel	37.34 ± 2.25 SA	
▶ Mode de délivrance		
Voie basse	19	54.29
Voie haute	16	45.71
▶ Type de grossesse		
Gémellaire	4	11.43
Mono-fœtale	31	88.57
▶ Parité chez la mère		
Multipare	28	80
Primipare	7	20
▶ Antécédents maternels		
▶ Gynéco-obstétricaux		
Présence	8	22.86
Absence	27	77.14
▶ Médico-chirurgicaux		
Présence	8	22.86
Absence	27	77.14

► **Biologie**• **Fréquence de détection de DLIS**

COBAS Integra 400+	n= 35	
> Seuil de détection	4	11.43
ARCHITECT i1000	n=25	
> Seuil de détection	6	24
• Taux de bilirubine	85.87±44.46 mg/l	N =24
• Kaliémie	4.89±1.37mmol/l	N =9

VIGNETTES CLINIQUES

Identification	B. M
Age	12 jours
Sexe	Féminin
Poids de naissance	3.06 Kg
Taille	50 cm
Maturité de la gestation	Née à terme
Age gestationnel	37 Semaines d'aménorrhée
Prématurité	/
Mode de délivrance	Voie basse
Type de grossesse	Mono-fœtale
Parité chez la mère	Primipare
Type d'alimentation	Maternel
Antécédents maternels	
- Antécédents médico-chirurgicaux	/
- Antécédents gynéco-obstétricaux	/
Morbidité (CIM)	Déshydratation Insuffisance rénale de stade III Hyperkaliémie
Traitement(s) instauré(s)	CLAFORAN® (Céfotaxime) Vancomycine Amikacine LASILIX® (Furosémide) JOSACINE® (Josamycine)
Taux de DLIS détectés	
- Sur COBAS Integra 400+ (KIMS)	0.00 ng/ml
- Sur Architect i1000 (CMIA)	0.43 ng/ml
Facteur(s) de risque	Insuffisance rénale aigue de stade III, Hyperkaliémie, Traitement par un diurétique hypokaliémiant (LASILIX®), Traitement par un macrolide (JOSACINE®) Délivrance par voie basse.

Identification	S. M
Age	12 jours
Sexe	Masculin
Poids de naissance	3.100 Kg
Taille	47 cm
Maturité de la gestation	Né à terme
Age gestationnel	37 Semaines d'aménorrhée
Prématurité	/
Mode de délivrance	Voie haute
Type de grossesse	Mono-fœtale
Parité chez la mère	Multipare
Type d'alimentation	Mixte
Antécédents maternels	
- Antécédents médico-chirurgicaux	/
- Antécédents gynéco-obstétricaux	/
Morbidité	Méningite néonatale
Traitement(s) instauré(s)	CLAFORAN® (Céfotaxime) Amikacine CIPROLON® (Ciprofloxacine) Amoxicilline JOSACINE® (Josamycine)
Résultats des dosages	
- Sur COBAS Integra 400+ (KIMS)	0.42ng/ml
- Sur Architect i1000 (CMIA)	0.0 ng/ml
Facteur(s) de risque	Traitement par un macrolide (JOSACINE®)

Identification	B. A
Age	02 jours
Sexe	Masculin
Poids de naissance	3.535 kg
Taille	50 cm
Maturité de la gestation	Né à terme
Age gestationnel	39 Semaines d'aménorrhée
Prématurité	/
Mode de délivrance	Voie basse
Type de grossesse	Mono-fœtale
Parité chez la mère	Multipare
Type d'alimentation	Maternel
Antécédents maternels :	
- Antécédents médico-chirurgicaux	/
- Antécédents gynéco-obstétricaux	/
Morbidité	Syndrome de détresse respiratoire
Traitement(s) instauré(s)	CLAFORAN® (Céfotaxime) Amikacine Antihistaminique H2 Ranitidine
Résultats des dosages :	
- Sur COBAS Integra 400+ (KIMS)	0.42ng/ml
- Sur Architect i1000 (CMIA)	0.0 ng/ml
Facteur(s) de risque	Syndrome de détresse respiratoire, Délivré par voie basse.

Identification	G. A
Age	04 jours
Sexe	Féminin
Poids de naissance	2.040 Kg
Taille	51 cm
Maturité de la gestation	Prématurée
Age gestationnel	35
Prématurité	Moyen
Mode de délivrance	Voie basse
Type de grossesse	Mono-fœtale
Parité chez la mère	Multipare
Type d'alimentation	Artificiel
Antécédents maternels	
- Antécédents médico-chirurgicaux	Ulcère gastrique
- Antécédents gynéco-obstétricaux	/
Morbidité	Ictère cutanéomuqueux à bilirubine libre
Traitement(s) instauré(s)	Photothérapie intensive
Résultats des dosages	
- Sur COBAS Integra 400+ (KIMS)	0.34 ng/ml
- Sur Architect i1000 (CMIA)	/
Facteur(s) de risque	Prématurité, Délivrance par voie basse, ICM à BL.

Identification	B. N
Age	18 jours
Sexe	Féminin
Poids de naissance	3.110 Kg
Taille	48 cm
Maturité de la gestation	Prématurée
Age gestationnel	35 Semaines d'aménorrhée
Prématurité	Moyen
Mode de délivrance	Voie basse
Type de grossesse	Mono-fœtale
Parité chez la mère	Multipare
Type d'alimentation	Maternel
Antécédents maternels	
- Antécédents médico-chirurgicaux	/
- Antécédents gynéco-obstétricaux	/
Morbidité	Convulsion néonatale
Traitement(s) instauré(s)	Valproate de sodium (DEPAKINE®) Phénobarbital (GARDENAL®) Clonazépam (RIVOTRIL®) Lévétiracétam (KEPAM®) Vitamine B8 (BIOTINE®) Antihistaminique H2 (RANITIDINE®) Céfotaxime (CLAFORAN®) Amikacine Pyridine Folate de calcium (LEDERFOLINE®)
Résultats des dosages	
- Sur COBAS Integra 400+ (KIMS)	0.48 ng/ml
- Sur Architect i1000 (CMIA)	0.0 ng/ml
Facteur(s) de risque	Prématurité Délivrance par voie basse

CHAPITRE III

DISCUSSION

1. Biais et contraintes de l'étude

La présente étude a été jalonnée par des biais ; il s'agit essentiellement de :

- **Biais d'information ou de classement**, à savoir :

Biais de mesure : lié à l'imprécision du seuil de la détection des DLIS défini pour l'analyseur COBAS integra 400+ ($< 0.3\text{ng/ml}$) ;

L'utilisation d'une méthode de mesure précise permet de diminuer les erreurs aléatoires et, par conséquent, la variabilité des résultats. D'autre part, des erreurs de transcription des résultats dans la base de données augmentent le taux d'erreurs aléatoires amenant une baisse de la précision (intervalle de confiance plus large).

Le recueil de données à partir de dossiers archivés, sont souvent incomplètes ou manquantes. Leur mesure n'est pas forcément standardisée, et leur codage peut manquer d'objectivité et les données nécessaires à l'exploration de nouvelles hypothèses de recherche ne sont pas forcément disponibles.

Ce sont des **biais différentiels** pouvant entraîner une distorsion de l'estimation, soit une surestimation ou une sous-estimation voire disparition d'une association (**validité interne**), notamment lors de l'étude des facteurs de risque.

- **Biais de sélection**

Le biais d'échantillonnage : Le choix de la population d'étude a été non probabiliste, de type empirique à choix raisonné (par convenance), conditionné par l'accessibilité à la population de nouveau-nés et par le nombre de réactifs disponibles.

Par ailleurs, la durée de l'étude (**3 mois**), est insuffisante pour assurer une complète étude des données ; en effet, la précision d'une estimation est proportionnellement reliée à la taille (**n**) de l'échantillon et inversement reliée à la variabilité (**X**) du paramètre étudié.

Par conséquent, les conclusions seraient alors trop limitées dans le temps et dans l'espace et les résultats ne sauraient être extrapolés ; de même que toutes les populations sources possibles devraient être soigneusement étudiées en permanence (**validité externe**).

2. Analyse de la population étudiée

Les premières études basées sur des dosages immunologiques utilisant des anticorps anti-digoxine ont identifié dans le sang de femmes enceintes, des facteurs immuno-réactifs analogues à la digoxine interagissant avec ces anticorps. Ces facteurs accidentellement découverts dans le sang fœtal et néonatal, nommées « *Digoxin-like immunoreactive substances* » littéralement substances immuno-réactives analogues à la digoxine, peuvent fausser le dosage de la digoxine dans le suivi thérapeutique de celle-ci. Ces études ont émis l'hypothèse que ces facteurs auraient pour origine l'unité fœto-placentaire. (43)

Dans notre étude (N=35), **11.42%** des nouveau-nés non-traités par les digitaliques ont montré une digoxinémie supérieure à la limite de détection de l'analyseur COBAS Integra 400+ (Roche®), potentiellement due à la présence de DLIS ;

A l'instar de l'étude menée par J.M. LUPOGLAZOFF qui a travaillé sur une population de femmes enceintes saines et pathologiques non-traitées par les digitaliques, a rapporté sur la base de prélèvements de choriocentèse, un taux positif aux DLIS estimé à **71%** qui s'est vu abaissé à seulement **8%** à la naissance. (49)

2.1.Facteurs de risque

2.1.1. Age

Au cours de cette étude, l'âge n'est pas considéré comme étant un facteur de risque impliqué dans la survenue d'interférences potentiellement dues aux DLIS ; il en est de même pour d'autres auteurs qui révèlent que l'âge n'est pas un facteur de risque. (22)

Ceci discordes avec une étude qui décrit une nette régression des taux de DLIS avec l'âge et des taux nettement plus élevés chez les nouveau-nés ayant moins de 4 jours, en effet ; le taux moyen de DLIS à la naissance était de **0.73 ±0.35 ng/ml**, de **0.45 ±0.11 ng/ml** pour les nouveau-nés ayant 1 jour, le taux moyen de ceux âgés de 3 jours était de **0.26 ±0.08 ng/ml** tandis qu'il était de **0.19 ±0.07 ng/ml** pour ceux âgés de 5 jours, il atteignait ensuite, des taux plus bas voire négatifs au bout de 45 jours de vie.(50)

2.1.2. Sexe

La présente étude n'a pas estimé le sexe comme étant un facteur de risque impliqué dans la survenue d'interférences potentiellement dues aux DLIS ($p = 1$) ; concordant avec l'étude

menée par Claire Fourcy LEBRUN sur une série de 40 nouveau-nés qui ne suggère aucune relation entre un potentiel taux de DLIS et le sexe du nouveau-né. (22)

2.1.3. Poids de naissance

L'étude menée n'indique pas de lien entre les taux de DLIS mesurés et le poids de naissance des nouveau-nés. Ceci concorde avec les résultats observés par les travaux menés sur les nouveau-nés par Claire Fourcy LEBRUN. (22)

En revanche, cela discordé avec les résultats obtenus par l'étude de V.M. BUCKALEW(43) ainsi que ceux obtenus par B.WOLACH qui démontre sur une série de 66 nouveau-nés, une corrélation positive entre les taux plasmatiques de DLIS et le poids de naissance ($r = 0.57$) ; en effet cette relation de proportionnalité a été établie à partir de nouveau-nés ayant un petit poids de naissance et qui ont présenté de faibles taux plasmatiques de DLIS. (50)

2.1.4. Maturité et âge de la gestation

Lors de cette étude, il n'y a pas de lien entre les taux de DLIS mesurés et la maturité ni même avec l'âge de la gestation ($p = 0.26$). Cela discordé avec les résultats de l'étude menée sur les nouveau-nés par KOVACS qui suggère, qu'étant donné l'association de la prématurité à une hypervolémie relative chez le nouveau-né, et compte-tenu des propriétés natriurétiques des DLIS, celles-ci pourraient contribuer à une situation complexe du développement postnatal. (43) (51)

Il est à noter que **50%** des nouveau-nés qui ont présenté un taux de DLIS mesuré sur COBAS Integra 400+ (KIMS) supérieur à la limite de détection de l'analyseur, sont nés **prématurément**.

Cette incapacité à établir une corrélation entre une interférence par les DLIS avec l'âge gestationnel, pourrait s'expliquer par la pauvreté de notre série de l'étude.

2.1.5. Mode de délivrance

Au cours de ce travail, il n'a pas établi de relation entre les taux plasmatiques de DLIS et le mode de délivrance du nouveau-né ($p = 0.6$).

La majorité des patients de notre série d'étude, ayant présenté des taux supérieurs à la limite de détection de l'analyseur COBAS Integra 400+ sont nés par **voie basse**.

Ceci est discordant avec ce qui a été décrit par l'étude qui porte sur « Role des *Endogenous Digoxin-Like Factors* dans les manifestations cliniques de prééclampsie sévère » par M. BUCKALEW, qui incrimine l'accouchement par voie basse en y associant une notion de stress généré plus importante que celui généré par une délivrance par voie haute. (43)

Cette association d'un taux relativement élevé de DLIS avec l'accouchement par voie basse, pourrait se voir justifiée, par un stress maternel plus intense antérieur à un accouchement par voie basse, qui serait ressenti par le fœtus, et qui déclencherait une synthèse endogène des DLIS par ce dernier. (43)

2.1.6. Type de grossesse

Il n'y a pas de lien entre les taux de DLIS plasmatiques des nouveau-nés et le type de grossesse ($p = 0.99$). Ce qui discord avec de précédentes études notamment l'étude « *Digoxin-like immunoreactive factor in twin and pregnancy-associated hypertensive pregnancies* » qui a décrit des taux plus élevés à la naissance lors de grossesses gémellaires pouvant refléter un mécanisme adaptatif physiologique qui assurerait un débit cardiaque plus élevé par un éventuel effet cardiotonique de ces substances.(52)(43)

Cette augmentation inhérente à la grossesse gémellaire pourrait aussi s'expliquer par la condition d'hypervolémie, qui se voit plus significative comparativement à la grossesse mono-fœtale, et induirait une synthèse endogène plus accrue de ces substances interférentes par les deux fœtus.

2.1.7. Antécédents maternels

- **Prééclampsie :**

La présente étude n'a pas établi de relation entre les taux de DLIS plasmatiques chez les nouveau-nés et la notion de grosse pré-éclamptique ; concordant avec l'étude menée par GONZALES et al., en 1987 qui ne rapporte pas de lien entre le taux de DLIS chez le nouveau-né et la notion de pré éclampsie chez la mère. (53)

Toutefois, il y'a lieu de rapporter dans notre série d'étude, le cas d'un nouveau-né de mère hypertendue atteinte d'éclampsie qui a présenté un taux plasmatique de DLIS inférieur à la limite de détection de l'analyseur COBAS Integra 400+ (KIMS).

Parallèlement à la littérature, des études menées sur les taux de DLIS incluant des femmes enceintes présentant une grossesse saine et une grossesse pré-éclamptique relativement aux

taux fœtaux obtenus par choriocentèse, décrivent une corrélation significative entre les taux de DLIS et la notion de pré-éclampsie (43) tels que :

Beyers et al. ont décrit un taux plasmatique maternel moyen de DLIS de 0.52 ± 0.06 ng/ml pour le groupe « Grossesse physiologique » contre un taux plasmatique maternel moyen de 0.68 ± 0.03 ng/ml pour le groupe « Grossesse pré-éclamptique ». En outre, ils décrivent également un taux relatif chez les nouveau-nés issus d'une grossesse physiologique de 0.82 ± 0.28 ng/ml contre un taux de 1.06 ± 0.34 ng/ml chez les nouveau-nés issus de grossesse pré-éclamptique.

Kaminski et Rechberger ont décrit un taux plasmatique maternel moyen de DLIS de 0.22 ± 0.2 ng/ml pour le groupe « Grossesse physiologique » contre un taux plasmatique maternel moyen de 0.57 ± 0.23 ng/ml pour le groupe « Grossesse pré-éclamptique ». En outre, ils décrivent également un taux relatif chez les nouveau-nés issus d'une grossesse physiologique de 0.73 ± 0.14 ng/ml contre un taux de 1.0 ± 0.31 ng/ml chez les nouveaux issus de grossesse pré-éclamptique.

Quant à Schabort et al., ils ont rapporté un taux plasmatique maternel moyen de DLIS de 0.75 ± 0.58 ng/ml pour le groupe « Grossesse physiologique » contre un taux plasmatique maternel moyen de 0.78 ± 0.30 ng/ml pour le groupe « Grossesse pré-éclamptique ». En outre, ils décrivent également un taux relatif chez les nouveau-nés issus d'une grossesse physiologique de 1.36 ± 0.39 ng/ml contre un taux de 1.69 ± 0.51 ng/ml chez les nouveaux issus de grossesse pré-éclamptique.(43)

Ce rapport entre les taux de DLIS et la notion de pré-éclampsie s'expliquerait par le rôle que joue les DLIS dans l'homéostasie hydrique et sodique chez la mère. En effet, on leur associe un effet natriurétique dans les grossesses pré-éclamptiques.

2.1.8. Morbidité

- **Insuffisance rénale**

Il n'y a pas eu, au cours de ce travail, de lien établi entre la notion d'insuffisance rénale et les taux plasmatiques des DLIS chez les nouveau-nés. ($p = 0.99$) Ceci discordance avec ce qui est décrit dans la littérature, notamment dans l'« étude en période néonatale des substances immuno-réactives interférant avec le dosage de la digoxine » datant de 1989 (22) qui ne démontre pas de rapport entre les taux de DLIS et la situation clinique du nouveau-né.

Pourtant, notre étude montre le cas d'un nouveau-né atteint d'insuffisance rénale aigue de stade III ayant présenté une digoxinémie de **0.43 ng/ml** sur analyseur ARCHITECT i1000 (Abbott®), sans avoir reçu de traitement à base de digoxine.

- **Détresse respiratoire**

Il n'y a pas eu, au cours de la présente étude un lien entre la présence d'une détresse respiratoire chez le nouveau-né et les concentrations plasmatiques de DLIS. Ceci concorde avec ce qui a été décrit lors de « L'étude en période néonatale des substances immuno-réactives interférant avec le dosage de la digoxine » en 1989 par Claire Fourcy LEBRUN (22).

Toutefois, cela discordé avec une tierce étude datant de 2013 qui traite du « Rôle des DLIS dans la pathogénèse de la tachypnée transitoire du nouveau-né » menée par Mehmet Yalaz et al. qui décrit une relation positive entre le taux de DLIS chez les nouveau-nés et la présence d'un trouble respiratoire. En effet, cette étude menée sur deux populations, l'une étant des nouveau-nés présentant une tachypnée transitoire (TTN) qui constitue une partie importante des cas de détresse respiratoire, et l'autre étant des nouveau-nés sains.

Les taux plasmatiques de DLIS étaient statistiquement plus élevés dans le groupe TTN (**0.66 ± 0.37ng /ml**) relativement au groupe témoin (**0.24 ± 0.20ng /ml**).

Pour le groupe TTN, une corrélation significative a été observée entre les taux plasmatiques de DLIS et la fréquence respiratoire maximale. Les patients atteints de TTN ont ainsi présenté une augmentation des taux plasmatiques de DLIS en corrélation avec la gravité de la maladie. (54)

Cette corrélation pourrait se voir expliquée par un trouble métabolique résultant de la détresse respiratoire, qui associé à un état de stress intense, altère la condition de ventilation du nouveau-né ; ceci induirait potentiellement la production de DLIS par ce dernier.

2.1.9. Interférences biologiques

- **Bilirubinémie**

La bilirubine, à une certaine mesure, interagit avec le dosage de la digoxinémie. Sur analyseur COBAS Integra 400+ (Roche®), la limite d'interférence de la bilirubine dans le dosage de la digoxine est fixée à 252 mg/l.

La série de l'étude n'a pas présenté de taux de bilirubine indirecte suffisamment élevé pour pouvoir atteindre la limite d'interférence de la bilirubine concernant le dosage de la digoxine par COBAS Integra 400+.

Toutefois, l'étude « *Characterization of bilirubin interference in three commonly used digoxin assays* » de Simonson et al. a corrélié le taux de bilirubinémie avec une interférence au dosage de la digoxine mais démontre, après comparaison du dosage de la digoxinémie sur trois analyseurs distincts, respectivement : le Cobas® 8000, le Vitros® 4600 et le Beckman Coulter® DxI, que la bilirubine n'affectait pas de manière significative, le dosage sur Cobas® 8000 mais préconisait une interprétation précautionneuse des échantillons ictériques qui requièrent une quantification de la digoxine. (55)

- **Kaliémie**

La présente étude n'a pas identifié le trouble de la kaliémie comme une notion liée aux taux plasmatiques de DLIS chez les nouveaux nés ($p = 0.99$).

Néanmoins, trois quarts (3/4) des nouveau-nés ayant présenté une positivité plasmatique forte aux DLIS sur COBAS Integra 400+ (Roche®) ont montré une kaliémie perturbée.

Ce résultat concorde avec l'incapacité de l'étude « *Digoxin-Like Immuno reactive Substance in Nonoliguric Hyperkalemia of the Premature Infant* » menée par Eva MILDENBERGER et al. (N=60) à établir une corrélation entre l'hyperkaliémie et le taux de DLIS chez le nouveau-né (56).

Contrairement à l'étude « *Digoxin toxicity and electrolytes : a correlative study* » (57) effectuée par S. SUNDAR, DP. BURMA et SKI. VAISH qui décrit une corrélation significative.

2.1.10. Interférences médicamenteuses

- **JOSACINE[®] (Josamycine)**

Dans notre série, l'élévation du taux plasmatique de DLIS chez les nouveaux nés n'est pas lié au traitement par la JOSACINE[®] ($p = 0.47$).

Toutefois, on rapporte deux nouveau-nés de la série qui ont reçu un traitement à base de JOSACINE[®] ; un cas présentait une digoxinémie de **0.42ng/ml** sur COBAS Integra 400+ (KIMS), le second a manifesté une augmentation de la digoxinémie postérieurement à l'introduction de la JOSACINE[®] dans sa thérapie.

Ceci pourrait s'expliquer par l'effet, peu connu qu'exercent les macrolides sur certaines protéines de transport membranaire qui leur permet de modifier la concentration de molécules, comme la digoxine. En tenant compte, de l'analogie structurale des DLIS avec la digoxine, les macrolides, parmi eux la JOSACINE[®] pourrait potentiellement avoir un effet similaire avec les DLIS. (58)

- **LASILIX[®] (Furosémide)**

Le LASILIX[®] expose à l'hypokaliémie qui favorise la survenue d'effets toxiques aux digitaliques, comme le relate Sundar S, Burma DP, Vaish SK. dans leur étude « *Digoxin toxicity and electrolytes : a correlative study* ». (57)

Au cours de ce travail, le cas ayant souffert d'insuffisance rénale et d'hyperkaliémie a reçu un traitement par le LASILIX[®] ; avant son introduction, il a présenté une digoxinémie positive sur ARCHITECT i1000 (CMIA) qui s'est vue diminuée une fois ce traitement reçu. Parallèlement sur COBAS Integra 400+ (KIMS), le taux était inférieur à la limite de détection de l'analyseur et a augmenté postérieurement à l'instauration du LASILIX[®]

3. Comparaison de la fréquence de survenue de l'interférence des DLIS

A la suite du test de **Mc. Nemar**, la présente étude a montré qu'il existe une différence non-significative ($p = 0.32$) entre les taux de DLIS détectés sur analyseur COBAS Integra 400+ (Roche®) qui utilise la méthode d'interaction cinétique de microparticules en solution (*Kinetic Interaction Microparticles in Solution*) et sur analyseur ARCHITECT i1000 (Abbott®) qui utilise la méthode basée sur la chimiluminescence de microparticules (*Chemiluminescent Microparticles Immuno-Assay*). On peut donc dire que, les deux techniques de dosage sont équivalentes quant à la probabilité d'avoir une sur-sous-estimation de la digoxinémie chez les nouveau-nés due à une interférence par les DLIS.

Toutefois, les résultats obtenus avec dosage de la digoxinémie sur ARCHITECT i1000 (Abbott®) montrent une détectabilité plus importante (**24%**) relativement à ceux obtenus sur COBAS Integra 400+ (Roche®) (**12%**). Parallèlement, les taux sur COBAS Integra 400+ ont présenté une plus importante positivité.

Sur la base de l'étude des performances analytiques du Therapeutic drug monitoring (TDM) de l'analyseur COBAS Integra 400+ (Roche) qui est décrite dans la section « TDM sur COBAS Integra 400+ : Résultats de l'évaluation », il est possible de conclure que le COBAS Integra 400+ convient très bien au dosage analytique de routine de la digoxinémie. (59)

En ce qui concerne l'analyseur ARCHITECT i1000 (Abbott®), les annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale datant de Septembre 2012 qui a comparé huit différentes méthodes de dosage de la digoxinémie démontrent une bonne maîtrise de la plupart des techniques utilisées, notant que certains systèmes sont beaucoup plus précis que d'autres, comme l'objectivent les CV qui vont de 2.1 à 15.2%, parmi elles, la technique CMIA utilisée par L'ARCHITECT i1000 (Abbott®) qui a présenté un CV de 4.5%. (60)

4. Etude des cas cliniques

4.1. Premier cas (B.M)

Nous décrivons le cas de la patiente B.M, âgée de douze (12) jours et pesant 3.06 Kg, de sexe féminin, née à terme à l'issue d'une grossesse mono-fœtale primipare de 37 semaines d'aménorrhée d'un accouchement par voie basse. Elle a été admise au niveau du service de Néonatalogie du C.H.U de Tizi-Ouzou, pour prise en charge d'une insuffisance rénale aigue de stade III, d'une déshydratation et d'une hyperkaliémie.

Aucun antécédant familial n'a été signalé. La mère n'a également présenté aucune pathologie gravidique.

L'allaitement du bébé était exclusivement maternel.

Le nouveau-né a reçu un traitement diurétique (Lasilix[®]), un traitement antibiotique (Claforan[®] + Vancomycine[®] + Amikacine[®]), l'antibiothérapie a ensuite été modifiée par introduction de la JOSACINE[®].

Les résultats du premier dosage de la digoxinémie sur COBAS Integra 400+ (KIMS) était de **0.15ng/ml** et de **0.43 ng/ml** sur ARCHITECT i1000 (CMIA).

Ceux du second dosage sur COBAS Integra 400+ était de **0.15 ng/ml** et de **0.06 ng/ml** sur ARCHITECT i1000.

Le troisième dosage sur COBAS Integra 400+ était de **0.15ng/ml** et de **0.01 ng/ml** sur ARCHITECT i1000.

Le dernier dosage n'a été effectué que sur COBAS Integra 400+ et a donné un résultat de **0.32 ng/ml** pour la digoxinémie.

Les variations des dosages de la digoxinémie respectivement sur COBAS Integra 400+ (Roche[®]) et sur ARCHITECT i1000 (Abbott[®]) pourraient s'expliquer comme suit :

- La présence initiale de taux positifs sur les deux analyseurs, aussi faibles soient ils (COBAS = **0.15ng/ml**) pourrait se voir justifiée par la morbidité du nouveau-né : en effet la littérature décrit une corrélation entre l'insuffisance rénale et les DLIS. La délivrance par voie basse, et le stress que cela a généré, pourrait également être un argument à prendre en compte pour justifier cette positivité.

- Le premier dosage sur ARCHITECT i1000 qui montre un taux significativement positif (**0.43 ng/ml**) pourrait potentiellement être induit par l'altération métabolique résultante de la défaillance rénale. La régression des taux sur ARCHITECT i1000 pourrait être due à la correction de l'insuffisance rénale.
- L'augmentation des taux plasmatiques de DLIS mesurés sur COBAS Integra 400+ (1^{er} dosage = **0.15ng/ml**, 2nd dosage = **0.32ng/ml**) pourrait se voir expliquée par l'introduction de la Josamycine (JOSACINE[®]). En effet, celle-ci exerce un effet sur certaines protéines de transport membranaire, ce qui modifierait la concentration plasmatique des DLIS, reconnus pour posséder une structure similaire à celle de la digoxine.
- L'hyperkaliémie résultante de l'insuffisance rénale aiguë, pourrait voir sa persistance expliquée par la production, de la part du nouveau-né, de DLIS qui sont dits posséder un effet natriurétique.

4.2. Deuxième cas (S.M)

Nous décrivons le cas du patient S.M, âgé de douze (12) jours et pesant 3.100 Kg, de sexe masculin, né à terme à l'issue d'une grossesse mono-fœtale multipare, au bout de 37 semaines d'aménorrhée d'un accouchement par voie haute. Il a été admis au niveau du service de Néonatalogie du C.H.U de Tizi-Ouzou, pour prise en charge d'une méningite néonatale.

Aucun antécédant familial n'a été signalé. La mère n'a également présenté aucune pathologie gravidique.

L'allaitement du bébé était exclusivement maternel.

Le nouveau-né a reçu un traitement antibiotique (Claforan[®] + Amoxicilline + Amikacine + Ciprofon[®]), l'antibiothérapie a ensuite été modifiée par introduction de la Josacine[®].

Les résultats du premier dosage de la digoxinémie sur COBAS Integra 400+ (KIMS) était de **0.42ng/ml** et de **0.0ng/ml** sur ARCHITECT i1000 (CMIA).

- Cette différence de digoxinémie mesurée sur COBAS Integra 400+ et ARCHITECT i1000 pourrait être justifiée par l'interférence de la Josamycine (JOSACINE[®]) dans le dosage de la digoxinémie exclusivement sur COBAS Integra 400+ (*Kinetic Interaction of Microparticles in Solution*).

4.3. Troisième cas (B.A)

Nous décrivons le cas du patient B.A, âgé de deux (02) jours, pesant 3.535 Kg, de sexe masculin, né à terme à l'issue d'une grossesse mono-fœtale multipare, au bout de 39 semaines d'aménorrhée, délivré par voie basse. Hospitalisé au niveau du service de néonatalogie du C.H.U de Tizi-Ouzou, à trois (03) heures de vie pourprise en charge d'un syndrome de détresse respiratoire précoce, sans antécédents familiaux pathologiques.

L'allaitement était exclusivement maternel.

Ce nouveau-né a reçu un traitement antibiotique (Claforan[®] + Amikacine[®]) ainsi qu'un traitement antihistaminique (Ranitidine[®])

Au cours du dosage de la digoxinémie sur COBAS Integra 400+ le résultat était de **0.42 ng/ml** et de **0.00ng/ml** sur ARCHITECT i1000.

Le second dosage,uniquement effectué sur COBAS Integra 400+ a donné un résultat de **0.22 ng/ml**.

- La présence de DLIS chez ce sujet, notamment au cours du 1^{er} dosage, pourrait se voir expliquée par le syndrome de détresse respiratoire qui induirait la production, par un trouble métabolique et ventilatoire, de DLIS. Associée à cela, la délivrance par voie basse aurait également pu jouer un rôle dans la genèse des DLIS.
- Leur régression ultérieure, pourrait quant à elle se voir justifiée, par la correction de ce syndrome.

4.4. Quatrième cas (G.A)

Nous décrivons le cas de la patiente G.A, âgé de quatre (04) jours et pesant 2.040 Kg, de sexe féminin, née prématurée moyenne à l'issue d'une grossesse mono-fœtale multipare, au bout de 35 semaines d'aménorrhée d'un accouchement par voie basse. Admise au niveau du service de Néonatalogie du C.H.U de Tizi-Ouzou, pour prise en charge de convulsion néonatale.

La mère a reçu un traitement antiulcéreux, qui s'est avéré être efficace. Toutefois, elle n'a présenté aucune pathologie gravidique.

L'allaitement du bébé était artificiel.

La patiente un été sujette à une photothérapie intensive pour prise en charge d'ictère cutanéomuqueux à bilirubine libre.

Le résultat du dosage de la digoxinémie, uniquement effectué sur COBAS Integra 400+ était de **0.34ng/ml**.

- Cette positivité de la digoxinémie mesurée sur COBAS Integra 400+, pourrait probablement être due à une synthèse endogène de DLIS par le nouveau-né, compte-tenu de la prématurité moyenne du nouveau-né qui constitue un facteur de risque décrit dans la littérature. En effet, l'immaturation des organes du nouveau-né, induit une pseudo-hypervolémie, qui provoquerait la production de DLIS, présumés facteurs natriurétiques, ce qui corrigerait ainsi l'hypervolémie. L'accouchement par voie basse, et le stress que cela a généré à la mère pourrait également être un argument à prendre en considération ; en effet, le stress généré pourrait hypothétiquement être ressenti par le fœtus et induirait la synthèse de DLIS, dont les taux plasmatiques chez le nouveau-né diminueraient en post-partum.

4.5. Cinquième cas (B.N)

Nous décrivons le cas de la patiente B.N, âgé de dix-huit (18) jours et pesant 3.110 Kg, de sexe féminin, née prématuréemoyenne à l'issue d'une grossesse mono-fœtale multipare, au bout de 35 semaines d'aménorrhée d'un accouchement par voie basse. Admise au niveau du service de Néonatalogie du C.H.U de Tizi-Ouzou, pour prise en charge de convulsion néonatale.

Aucun antécédant familial n'a été signalé. La mère n'a également présenté aucune pathologie gravidique.

L'allaitement du bébé était exclusivement maternel.

Le nouveau-né a reçu un traitement antiépileptique (Valproate de sodium (DEPAKINE[®]) + Phénobarbital (GARDENAL[®]) + Clonazépam (RIVOTRIL[®]) + Lévétiracétam (KEPAM[®])), un traitement antibiotique (Céfotaxime + Amikacine + Pyridine), un traitement anti-histaminique (RANITIDINE[®]) ainsi que des compléments vitaminiques (Vitamine B8 (BIOTINE[®]) + Folate de calcium (LEDERFOLINE[®])).

Les résultats du premier et unique dosage de la digoxinémie sur COBAS Integra 400+ (KIMS) était de **0.48ng/ml** et de **0.0 ng/ml** sur ARCHITECT i1000 (CMIA).

- Cette positivité de la digoxinémie mesurée sur COBAS Integra 400+, pourrait probablement être due à une synthèse endogène de DLIS par le nouveau-né, en effet ; ce dernier rassemble les deux notions de prématurité (35 SA) et de naissance par voie basse, qui sont toutes deux décrites dans la littérature comme étant des facteurs de risque à l'origine de la production de DLIS.

CONCLUSION

L'interférence dans les essais immunologiques est l'un des facteurs qui contribue à l'incertitude des examens biologiques. Malgré les progrès réalisés dans la connaissance et la compréhension des mécanismes d'interférence dans ces dosages, il n'existe pas de procédure unique qui permette d'exclure le risque de leur survenue. Aujourd'hui encore, des études prennent pour objet, les récentes techniques de dosage rencontrant des taux élevés d'interférences en pratique.

Les premières études basées sur des dosages immunologiques utilisant des anticorps anti-digoxine ont identifié dans le sang de femmes enceintes, des facteurs immuno-réactifs analogues à la digoxine interagissant avec ces anticorps. Ces facteurs accidentellement découverts dans le sang fœtal et néonatal, nommées « *Digoxin-like immunoreactive substances* » littéralement substances immuno-réactives analogues à la digoxine, sont associés à une expansion du volume plasmatique. Ainsi, on rapporte des concentrations élevées de DLIS dans les cas d'urémie, d'hypertension, d'hépatopathie, de néphropathie, de prééclampsie, de transplantation hépatique et rénale, d'insuffisance cardiaque congestive, de prématurité et dans d'autres conditions pathologiques... Ces études ont émis l'hypothèse que ces facteurs auraient pour origine l'unité fœto-placentaire.

Les DLIS endogènes et exogènes sont susceptibles d'interférer significativement dans le dosage de la digoxine sérique. En effet, elles entraînent des valeurs faussement élevées d'importance faible à modérée de la digoxinémie dans la plupart des dosages immunologiques de celle-ci.

En cas de suspicion clinique ou de discordance entre les données cliniques et biologiques, une démarche de conciliation de celles-ci est préconisée. L'obstacle le plus insidieux est très probablement, celui des interférences d'anticorps ; une parade absolue contre ces interférences consisterait en une dénaturation ou à une élimination préalable des anticorps contenus dans l'échantillon analysé antérieurement au dosage. Malencontreusement, la dénaturation des anticorps n'est en général, pas sans effet sur l'analyte lui-même, quant à l'élimination systématique des anticorps par précipitation au polyéthylène glycol (PEG) envisagée par certains auteurs, elle manque de fiabilité et implique de nombreux problèmes pratiques.

Il est important de reconnaître pour chaque immuno-dosage, le potentiel d'interférences et la façon dont les résultats artéfactuels peuvent entraîner une mauvaise interprétation clinique et de mettre en place, dans la mesure du possible, des procédures d'identification de ces interférences pour garantir une prise en charge thérapeutique optimale.

La reconnaissance de tels résultats exige une collaboration constante de la part du laboratoire et du clinicien.

Les interférences dans la mesure des concentrations sériques de la digoxine peuvent être complètement éliminées par le dosage des concentrations de digoxine libre (ultrafiltrat plasmatique). Par conséquent, il est recommandé, en cas d'hypervolémie, de surveiller les concentrations de digoxine libre.

A l'issue de cette étude, nous recommandons :

1. Une collaboration clinico-biologique :
 - ✓ Un dialogue entre cliniciens et biologistes doit être instauré lors de la prise en charge des patients traités par les digitaliques cardiotoniques.
 - ✓ Une fiche dument remplie incluant tout facteur de risque pouvant interférer au dosage de la digoxine, devrait être jointe au prélèvement orienté au laboratoire pour analyse.
2. Des précautions au niveau du laboratoire :
 - ✓ Préconiser l'ultrafiltration lors de l'obtention de résultats d'analyse douteux.
 - ✓ Utilisation de techniques chromatographiques plus performantes et plus spécifiques pour les résultats incohérents.

Bibliographie

Bibliographie

1. Sapin R. Interférences dans les immunodosages : mécanismes et conséquences en endocrinologie. /data/revues/00034266/00690005/08000929/ [Internet]. 4 nov 2008 [cité 28 nov 2018]; Disponible sur: <http://www.em-consulte.com/en/article/187787>
2. Larousse É. Définitions : anticorps - Dictionnaire de français Larousse [Internet]. [cité 1 janv 2019]. Disponible sur: <https://www.larousse.fr/dictionnaires/francais/anticorps/4015>
3. Une technologie de référence : les anticorps monoclonaux | Innate Pharma [Internet]. [cité 21 juin 2019]. Disponible sur: <https://www.innate-pharma.com/fr/portefeuille/technologie-reference-anticorps-monoclonaux>
4. Batteux F, Garraud O, Prin L, Renaudineau Y, Vallat L. Les Immunoglobulines : Structure et fonctions. :10.
5. Dosage des médicaments [Internet]. Disponible sur: <https://www.sjbm.fr/images/cahiers/1997-Bioforma-09-Dosage%20des%20m%C3%A9dicaments%201.pdf>
6. Grange RD, Thompson JP, Lambert DG. Radioimmunoassay, enzyme and non-enzyme-based immunoassays. *British Journal of Anaesthesia*. févr 2014;112(2):213-6.
7. Aydin S. A short history, principles, and types of ELISA, and our laboratory experience with peptide/protein analyses using ELISA. *Peptides*. 1 oct 2015;72:4-15.
8. How Electrochemiluminescence (ECL) Works - YouTube [Internet]. [cité 19 avr 2019]. Disponible sur: <https://www.youtube.com/watch?v=PHbcvBGfzMM>
9. Cours THYROÏDE Dr Dahmani.
10. Vo-Dinh T. Chemiluminescence. In: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, éditeur. digital Encyclopedia of Applied Physics [Internet]. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA; 2003 [cité 30 juin 2019]. p. eap063. Disponible sur: <http://doi.wiley.com/10.1002/3527600434.eap063>
11. Nielsen K, Lin M, Gall D, Jolley M. Fluorescence Polarization Immunoassay: Detection of Antibody to Brucella abortus. *Methods*. 1 sept 2000;22(1):71-6.
12. Traité De Toxicologie Médico-judiciaire [Internet]. Elsevier; 2012 [cité 29 juin 2019]. Disponible sur: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/C20120005236>
13. kims-testprinzip_drogenscreening_roche.pdf [Internet]. [cité 1 juill 2019]. Disponible sur: https://www.roche.de/res/content/9934/kims-testprinzip_drogenscreening_roche.pdf
14. Molina-Bolívar JA, Galisteo-González F. Latex Immunoagglutination Assays. *Journal of Macromolecular Science, Part C*. 1 janv 2005;45(1):59-98.
15. Technique d'immunoprécipitation : exemple de la technique d'Ouchterlony [Internet]. [cité 22 avr 2019]. Disponible sur: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:http://fdanieau.free.fr/cours/bts/A1/bcm/TP/TP2-ImmunoPrecipitations.pdf>
16. Tate J, Ward G. Interferences in Immunoassay. *Clin Biochem Rev*. mai 2004;25(2):105-20.

Bibliographie

17. Digitaliques [Internet]. [cité 29 mars 2019]. Disponible sur: <https://www.pharmacomedicale.org/medicaments/par-specialites/item/digitaliques>
18. Masson E. Tonicardiaques [Internet]. EM-Consulte. [cité 11 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/3701/tonicardiaques>
19. Saint-Dié, Club Cœur et Santé de. Fuch's Great Herbal [Internet]. [cité 29 mars 2019]. Disponible sur: <http://special.lib.gla.ac.uk/exhibns/month/oct2002.html>
20. William Withering and the Purple Foxglove: A Bicentennial Tribute by Jeremy M. Norman - Articles by and about Collectors, Librarians, and Booksellers - Traditions & Culture of Collecting - Jeremy Norman's HistoryofScience.com [Internet]. [cité 29 mars 2019]. Disponible sur: <http://www.historyofscience.com/articles/jmnorman-william-withering.php>
21. whitering william - Recherche Google [Internet]. [cité 9 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.google.dz/search?q=whitering+william&tbm=isch&tbs=simg:CAQSkwEJC2RXdvJ7R0ahwELEKjU2AQaAAwLELCMpwwaYgpgCAMSKJoF-QSOD9kZ3gXdB4QP4QfYctkKmS72JLw0hDiaLv838STOPd0kvzQaMBNsJz3FnE6la1Uvev4XhIDBR4UWCGwrGQwSM4l19B6pYHILONF-cz2seqRN3gNYhyAEDAsQjq7-CBoKCgglARIE0o6hTgw&sa=X&ved=0ahUKewi67eSL947iAhWBsHEKHevTCywQwg4IKCgA&biw=1298&bih=697#imgrc=SJ896wqbykS0qM:>
22. Lebrun CF. Etude en période néonatale des substances immunoréactives interférant avec le dosage de digoxine. :92.
23. Saint-Dié CC et S de. La digitale, belle et bonne pour le cœur, mais toxique – Club Cœur et Santé de Saint-Dié [Internet]. [cité 29 mars 2019]. Disponible sur: <https://coeursante.deodatie.fr/2018/06/24/la-digitale-une-plante-pour-le-coeur-belle-mais-toxique/>
24. Rôle cardioprotecteur de l'insuline dans l'intoxication aiguë à la digoxine : étude in vivo et mécanisme d'action cellulaire [Internet]. [cité 20 mai 2019]. Disponible sur: <http://theses.unistra.fr/ori-oai-search/notice.html?id=oai:EPrintsUneraTest01:1772&printable=true>
25. Digitale pourpre/Digitalis purpurea L. [Internet]. [cité 29 mars 2019]. Disponible sur: <http://uiabotanique.free.fr/activite/plantesimple/digital.htm>
26. Digitalis purpurea L - Recherche Google [Internet]. [cité 29 mars 2019]. Disponible sur: https://www.google.dz/search?q=Digitalis+purpurea+L&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKewjv0OqTr6fhAhVI4aQKHxZ8DR0Q_AUIDigB&biw=1295&bih=697#imgrc=F3wtYcufnYZtBM:
27. www.unitheque.com. Botanique Pharmacognosie Phytothérapie [Internet]. [cité 10 mai 2019]. Disponible sur: https://www.unitheque.com/Livre/wolters_kluwer/Cahiers_du_preparateur_en_pharmacie/Botanique_Pharmacognosie_Phytotherapie-4480.html
28. Plantes toxiques BRUNETON Jean [Internet]. [cité 10 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.lavoisier.fr/livre/agriculture/plantes-toxiques-3-ed/bruneton/descriptif-9782743008062>

Bibliographie

29. Digitale laineuse (*Digitalis lanata*) : culture, entretien, semis [Internet]. jardin-secrets.com. [cité 10 mai 2019]. Disponible sur: <https://jardin-secrets.com/digitale-laineuse-article-10632,135,fr.html>
30. digitale laineuse - Recherche Google [Internet]. [cité 9 mai 2019]. Disponible sur: https://www.google.dz/search?q=digitale+laineuse&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEWi13dyVu47iAhVP1eAKHauDB5YQ_AUIDigB&biw=1298&bih=697#imgrc=P8cj2dO0gqhMAM:
31. FMPMC-PS - Pharmacologie - Niveau DCEM1 structure de digoxine [Internet]. [cité 30 janv 2019]. Disponible sur: <http://www.chups.jussieu.fr/polys/pharmaco/poly/POLY.Chp.9.5.3.html>
32. Cardiac Glycosides [Internet]. [cité 10 mai 2019]. Disponible sur: <http://www.people.vcu.edu/~urdesai/car.htm>
33. Dictionnaire Vidal 2015 (91e édition) [Internet]. [cité 20 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.livres-medicaux.com/dictionnaire-vidal-2015-91e-edition.html>
34. Atlas de poche Pharmacologie LULLMANN Heinz, MOHR Klaus, HEIN Lutz [Internet]. Librairie Lavoisier. [cité 10 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.lavoisier.fr/livre/genie-pharmaceutique/atlas-de-poche-de-pharmacologie-5-ed/lullmann/descriptif-9782257206459>
35. Inhibiteurs de la Na⁺/K⁺-ATPase : Glucosides cardiotoniques (Digoxine) – Pharmacorama [Internet]. [cité 10 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.pharmacorama.com/pharmacologie/medicaments-elements/nak-atpase-inhibiteurs-digoxine/inhibiteurs-nak-atpase-glucosides-cardiotoniques-digoxine/>
36. www.unitheque.com. Pharmacologie [Internet]. [cité 10 mai 2019]. Disponible sur: https://www.unitheque.com/Livre/elsevier_-_masson/Abreges/Pharmacologie-1699.html
37. Digitaliques - L'ère de la digoxine - A Berdeaux, Ph Geslin, Ph Lechat, Robert Haïat (EAN13 : 9782876711693), Editions Frison-Roche [Internet]. Editions Frison-Roche. [cité 10 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.editions-frison-roche.com/produit/60/9782876711693/digitaliques>
38. Masson E. Suivi thérapeutique pharmacologique des digitaliques [Internet]. EM-Consulte. [cité 20 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.em-consulte.com/article/61333/suivi-thérapeutique-pharmacologique-des-dig>
39. Notice NAGOXIN cp. Digoxine (Generic lab).
40. Clinical Biochemistry:Metabolic and Clinical Aspects - 3rd Edition [Internet]. [cité 19 mai 2019]. Disponible sur: <https://www.elsevier.com/books/clinical-biochemistry-metabolic-and-clinical-aspects/9780702051401>
41. Optimisation des thérapeutiques immunosuppressives par méthode pharmacologique. [Internet]. [cité 19 mai 2019]. Disponible sur: <http://www.theses.fr/079912435>
42. Prémaud A. Pharmacocinétique et suivi thérapeutique pharmacologique du mycophénolate mofétil dans le traitement anti-rejet de greffe = Pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring of mycophenolate mofetil in the prevention of allograft rejection [Internet]. Limoges; 2004 [cité 20 mai 2019]. Disponible sur: <http://aurore.unilim.fr/ori-oai-search/notice/view/unilim-ori-14679>

43. Buckalew VM. Role of endogenous digitalis-like factors in the clinical manifestations of severe preeclampsia: a systematic review. *Clinical Science*. 29 juin 2018;132(12):1215-42.
44. Dasgupta A. Endogenous and Exogenous Digoxin-like Immunoreactive Substances: Impact on Therapeutic Drug Monitoring of Digoxin. *American Journal of Clinical Pathology*. juill 2002;118(1):132-40.
45. Wu SL, Li W, Wells A, Dasgupta A. Digoxin-Like and Digitoxin-Like Immunoreactive Substances in Elderly People: Impact on Therapeutic Drug Monitoring of Digoxin and Digitoxin Concentrations. *American Journal of Clinical Pathology*. avr 2001;115(4):600-4.
46. Morris RG, Frewin DB, Saccoia NC, Goldsworthy WL, Jeffries WS, McPhee AJ. Interference from digoxin-like immunoreactive substance(s) in commercial digoxin kit assay methods. *European Journal of Clinical Pharmacology*. oct 1990;39(4):359-63.
47. FicheTechniqueDIGO.pdf [Internet]. [cité 6 juill 2019]. Disponible sur: <http://www.laboratoire-duquaivalliere.fr/notices%20analyses/FicheTechniqueDIGO.pdf>
48. FichTech COBAS.pdf.
49. Endogenous digoxin-like immunoreactivity during pregnancy and at birth. [Internet]. [cité 7 juill 2019]. Disponible sur: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1381570/>
50. Wolach B, Carmi D, Shilo L, Dolev S, Shenkman L. Endogenous digoxin-like factor in neonates: effect of age and relation to serum bilirubin levels. *Acta Paediatr Scand*. mai 1989;78(3):364-8.
51. Kovács L, Birčák J, Lichardus B. Endogenous digoxin-like substance in the urine of preterm infants with late hyponatremia. *Eur J Pediatr*. nov 1987;146(6):622-622.
52. Jakobi P, Krivoy N, Weissman A, Paldi E. Digoxin-like immunoreactive factor in twin and pregnancy-associated hypertensive pregnancies. *Obstet Gynecol*. juill 1989;74(1):29-33.
53. González AR, Phelps SJ, Cochran EB, Sibai BM. Digoxin-like immunoreactive substance in pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. sept 1987;157(3):660-4.
54. Yalaz M, Levent E, Olukman M, Calkavur S, Akisu M, Kultursay N. Role of digoxin-like immunoreactive substance in the pathogenesis of transient tachypnea of newborn. *Biomed Res Int*. 2013;2013:704763.
55. Simonson PD, Kim KH, Winston-McPherson G, Parakh RS, Yamaguchi D, Merrill AE, et al. Characterization of bilirubin interference in three commonly used digoxin assays. *Clinical Biochemistry*. janv 2019;63:102-5.
56. Mildemberger E, Oels K, Bauer K, Paul M, Versmold HT. Digoxin-Like Immunoreactive Substance in Nonoliguric Hyperkalemia of the Premature Infant. *NEO*. 2003;83(3):182-7.
57. Sundar S, Burma DP, Vaish SK. Digoxin toxicity and electrolytes: a correlative study. *Acta Cardiol*. 1983;38(2):115-23.
58. Cambonie G, Sabatier E, Guillaumont S, Masson F, Charbit J, Pidoux O, et al. Digoxine-Josamycine: une interaction dangereuse chez l'enfant. *Archives de Pédiatrie*. août 2006;13(8):1118-20.

Bibliographie

59. Domke I, Cremer P, Huchtemann M. Therapeutic drug monitoring on COBAS INTEGRA 400-- evaluation results. Clin Lab. 2000;46(9-10):509-15.
60. Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale.pdf.

ANNEXES

Annexe I : Fiche de renseignements.

Fiche de renseignements

Informations à propos du nouveau-né

N° dossier :
Code d'identification :
Nom et prénom :
Date et heure de naissance :
Sexe : Féminin Masculin
Poids à la naissance :Kg Taille :cm
Maturité de la grossesse : à terme Prématurité
Alimentation (Allaitement) : Maternel exclusif Artificiel exclusif Mixte

Informations à propos de la mère

Nom et prénom : Age :
Age gestationnel (date des dernières règles) :
Grossesse gémellaire : Oui Non
Voie de l'accouchement : Haute Basse
Pathologie gravidique : Oui Non
Si oui, laquelle ?
Parité de la grossesse : Primipare Multipare
Pathologie en parallèle : Oui Non
Si oui, laquelle ?
Traitement éventuel : Oui Non
Si oui, lequel ?
Antécédents familiaux :
Consommation de tisanes et phytothérapie : Oui Non
Si oui, de quel type ?

Prélèvement :

N° :

Date de réception :

Date du dosage	Digoxinémie (ng/ml)	
	COBAS	ARCHITECT

Motif d'admission :

.....

Thérapies éventuelles :

.....

Annexe II : Fiche technique centrifugeuse ROTOFIX 32 (Hettich®).

CENTRIFUGEUSE DE PAILLASSE

MARQUE : HETTICH
ORIGINE: GERMANY
TYPE: ROTOFIX 32 A
CAPACITE: 68 TUBES DE 5ML



Conception

- Couvercle et boîtier métalliques
- Cuve en acier spécial inoxydable
- Fermeture mécanique
- Regard dans le couvercle

Sécurité

- Verrouillage du couvercle et maintien en position fermée
- Arrêt en cas de déséquilibre
- Reconnaissance automatique du rotor
- Déverrouillage d'urgence

Commande

- Clavier à effleurement : **Entrée** précise, simple et rapide des paramètres grâce aux touches de sélection
- Vitesse RPM : Entrée par incréments de 100
- Durée t/min : Entrée en minutes, max. 99 min.
- Touche **IMPULS** : Pour les centrifugations de courte durée
- Touche de commutation **ACR** : Affichage de l'ACR pendant le cycle, aussi longtemps que l'on appuie sur la touche. Le rayon du rotor doit préalablement être entré.

Caractéristiques techniques

- Tension 208/240V
- Fréquence 50/60Hz
- Capacité max. 4x100ml / 32x15ml
- RPM max. (vitesse) 6000tr/min
- ACR max. 4226
- Dimensions (H/L/P) 257/366/430mm
- Poids 23kg

Livrée avec :

- 1 rotor à 4 places Réf. 1624
- 4 suspensions rainées 17x5ml Réf. 1372

Annexe III : Fiche technique de l'analyseur Architect i1000 (Abbott®).

ARCHITECT
SYSTEM



iDigoxin

REF 1P32

48-3619/R3

B1P322

IVD

iDigoxin

Faire attention aux modifications
Révision de février 2009

Pour de plus amples informations, contacter le Service Clients Abbott

Lire attentivement cette notice avant d'utiliser le dosage et suivre les instructions. La fiabilité des résultats du dosage ne peut pas être garantie si ces instructions ne sont pas strictement respectées.

Légende des symboles utilisés		
REF	Référence	REACTION VESSELS Cupules réactionnelles
IVD	Dispositif médical de diagnostic <i>in vitro</i>	SAMPLE CUPS Godets-échantillons
LOT	Numéro de lot	SEPTUM Septum
	Date d'expiration	REPLACEMENT CAPS Bouchons de remplacement
	Conservé entre 2 et 8 °C	REAGENT LOT Lot de réactifs
	Consulter les instructions d'utilisation	ASSAY CD-ROM CD-ROM de dosages
EC/REP	Mandataire	CONTROL NO. Numéro de contrôle
	Fabricant	SN Numéro de série
		CAUTION: IRRITANT Attention : Irritant

L'explication complète des symboles utilisés pour la dénomination des composants se trouve au paragraphe **REACTIFS**.

MISE EN GARDE : L'administration de DIGIBIND ou DIGIFAB peut se répercuter sur les valeurs de digoxine obtenues. Se référer au paragraphe **Substances interférentes** de la partie **CARACTÉRISTIQUES SPÉCIFIQUES**.

DENOMINATION
ARCHITECT / Digoxin

DOMAINE D'APPLICATION

ARCHITECT / Digoxin est un dosage *in vitro* immunologique microparticulaire par chimiluminescence (CMA) pour la mesure quantitative de la digoxine dans le sérum ou le plasma humain sur l'ARCHITECT / System avec fonction de traitement d'échantillons *UNEX/RS*. Les mesures obtenues aident dans le diagnostic et le traitement d'un surdosage en digoxine et pour le contrôle des concentrations en digoxine, afin d'assurer un traitement approprié.

RÉSUMÉ ET EXPLICATION DU TEST

La digoxine est un glucoside cardiotonique puissant couramment prescrit pour le traitement de l'insuffisance cardiaque congestive¹ ainsi que de certains types d'arythmies cardiaques.² La surveillance des taux sériques ou plasmatiques de digoxine est effectuée, car cette substance a une marge thérapeutique étroite (très faible différence entre les concentrations tissulaires thérapeutique et toxique) et parce que les symptômes d'un surdosage en digoxine peuvent ressembler à l'état initial pour lequel le médicament a été prescrit.³ Le dosage Digoxin peut également nécessiter un réajustement en cas d'insuffisance rénale⁴ ou lorsque les substances connues pour altérer la pharmacocinétique de la digoxine (comme la quinidine, le vérapamil ou l'amiodarone) sont coadministrées.⁴ La surveillance des taux sériques ou plasmatiques de digoxine associée à d'autres données cliniques, peut apporter au médecin des informations utiles qui l'aideront à adapter la posologie en vue d'obtenir un effet thérapeutique optimal, tout en évitant des posologies insuffisantes ou toxiques.⁵

PRINCIPES BIOLOGIQUES DE LA MÉTHODE

ARCHITECT / Digoxin est un dosage immunologique en une étape, destiné aux échantillons *UNEX/RS*, utilisant la technologie CMA avec des protocoles de dosage flexibles appelée Chemflex, pour la mesure quantitative de la digoxine dans le sérum ou le plasma humain.

L'échantillon, les microparticules paramagnétiques recouvertes d'anticorps anti-digoxine, le diluant de dosage ainsi que le conjugué de digoxigénine marqué à l'acridinium sont mis en présence pour créer un mélange réactionnel. Les microparticules recouvertes d'anticorps anti-digoxine se lient à la digoxine présente dans l'échantillon ainsi qu'au conjugué de digoxigénine marqué à l'acridinium. Après lavage, les solutions de préactivation et d'activation sont ajoutées au mélange réactionnel. La réaction chimiluminescente qui en résulte est mesurée en unités relatives de lumière (URL). Il existe une relation indirecte entre la quantité de digoxine présente dans l'échantillon et les URL détectées par le système optique de l'ARCHITECT / System.

Pour de plus amples informations concernant l'analyseur et la technologie de dosage, se référer au Chapitre 3 du Manuel Technique ARCHITECT.

REACTIFS

Kit de réactifs, 100 tests

Remarque : Certains conditionnements ne sont pas disponibles dans tous les pays ou utilisables sur tous les analyseurs ARCHITECT / Systems. Contacter le distributeur local.

ARCHITECT / Digoxin Reagent Kit (1P32)

- MICROPARTICLES** 1 flacon (6,6 ml) de microparticules recouvertes d'anticorps anti-digoxine (souris, monoclonaux) dans du tampon TRIS contenant un stabilisant de protéines (bovines). Conservateur : ProClin 300.
- CONJUGATE** 1 flacon (5,9 ml) de conjugué de digoxigénine marqué à l'acridinium dans du tampon citrate. Conservateur : ProClin 300.
- ASSAY DILUENT** 1 flacon (10,0 ml) de diluant de dosage contenant du sérum de chèvre avec du disodium EDTA. Conservateurs : ProClin 300 et ProClin 950.

Autres réactifs

ARCHITECT / Pre-Trigger Solution

- PRE-TRIGGER SOLUTION** Solution de préactivation contenant 1,32 % (m/v) d'eau oxygénée.

ARCHITECT / Trigger Solution

- TRIGGER SOLUTION** Solution d'activation contenant de l'hydroxyde de sodium 0,35 N.

ARCHITECT / Wash Buffer

- WASH BUFFER** Tampon de lavage contenant une solution saline tamponnée au phosphate. Conservateurs : agents antimicrobiens.

PRECAUTIONS ET RESTRICTIONS D'EMPLOI

Pour diagnostic *in vitro*.

Mesures de sécurité

ATTENTION : Ce produit nécessite la manipulation d'échantillons humains. Il est recommandé de considérer tous les produits d'origine humaine comme potentiellement infectieux et de les manipuler selon les règles "OSHA Standard on Bloodborne Pathogens".⁶ Les produits contenant ou susceptibles de contenir des agents infectieux doivent être manipulés selon les règles de biosécurité de niveau 2⁶ ou autres règles de biosécurité en vigueur.^{7,8}

Les microparticules et le diluant de dosage contiennent des méthylisothiazolones, qui sont des composants du ProClin et sont classifiés selon les directives de la Communauté européenne (CE) comme : irritants (X). Les risques particuliers (R) et les conseils de prudence (S) attribués à ces substances sont les suivants :

- R43 Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau.
- S24 Éviter le contact avec la peau.
- S35 Ne se débarrasser de ce produit et de son récipient qu'en prenant toutes précautions d'usage.
- S37 Porter des gants appropriés.
- S46 En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette.

Le conjugué contient des méthylisothiazolones qui sont des composants du ProClin et sont classifiés selon les directives de la Communauté européenne (CE) comme : irritants (X). Les risques particuliers (R) et les conseils de prudence (S) attribués à ces substances sont les suivants :

- R36/38 Irritant pour les yeux et la peau.
- R43 Peut entraîner une sensibilisation par contact avec la peau.
- S24/25 Éviter le contact avec la peau et les yeux.
- S26 En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un spécialiste.
- S35 Ne se débarrasser de ce produit et de son récipient qu'en prenant toutes précautions d'usage.
- S37 Porter des gants appropriés.
- S46 En cas d'ingestion, consulter immédiatement un médecin et lui montrer l'emballage ou l'étiquette.

Pour les produits non classifiés comme dangereux par la Directive européenne 1989/45/EC (amendée), des fiches de données de sécurité sont disponibles pour les professionnels sur simple demande.

Pour de plus amples informations sur l'élimination appropriée de l'azide de sodium et une explication détaillée des mesures de sécurité lors du fonctionnement de l'analyseur, se référer au chapitre 8 du Manuel Technique ARCHITECT.

Précautions d'emploi

- Ne pas utiliser les réactifs au-delà de leur date d'expiration.
- Ne pas mélanger les réactifs provenant d'un même kit ou de kits de réactifs différents.
- Avant de charger l'ARCHITECT / Digoxin Reagent Kit sur l'analyseur pour la première fois, le flacon de microparticules doit être homogénéisé afin de remettre en suspension les microparticules qui ont pu se déposer pendant le transport. Pour de plus amples informations sur l'homogénéisation des microparticules, se référer au paragraphe **Procédure du dosage** de la partie **PROCEDURE** de cette notice.
- Des septums DOIVENT être utilisés afin d'empêcher l'évaporation et la contamination des réactifs et d'assurer leur intégrité. La fiabilité des résultats du dosage ne peut pas être garantie si les septums ne sont pas utilisés conformément aux instructions de cette notice.
- Afin d'éviter toute contamination, porter des gants propres lors de l'application d'un septum sur un flacon de réactif débouché.
- Une fois qu'un septum a été placé sur un flacon de réactif ouvert, ne pas retourner le flacon afin d'éviter toute fuite de réactif et de ne pas fausser les résultats du dosage.
- Avec le temps, il se peut que des liquides résiduels séchent à la surface du septum. Il s'agit de selles secs qui n'ont aucune incidence sur la performance du dosage.
- Pour de plus amples informations sur les précautions d'emploi lors du fonctionnement de l'analyseur, se référer au chapitre 7 du Manuel Technique ARCHITECT.

Conditions de conservation

- zc  L'ARCHITECT / Digoxin Reagent Kit doit être conservé entre 2 et 8 °C en position verticale et peut être utilisé immédiatement après sa sortie du réfrigérateur (2 à 8 °C).
- Les réactifs sont stables jusqu'à leur date d'expiration s'ils sont conservés et manipulés selon les indications du fabricant.
- L'ARCHITECT / Digoxin Reagent Kit peut être conservé à bord de l'ARCHITECT / System avec fonction de traitement d'échantillons **URGENTS** pendant 30 jours au maximum. Au-delà de ce délai, le kit de réactifs doit être jeté. Pour de plus amples informations sur le suivi de la stabilité des réactifs à bord de l'analyseur, se référer au Chapitre 5 du Manuel Technique ARCHITECT.
- Les réactifs peuvent être conservés à l'intérieur ou à l'extérieur de l'ARCHITECT / System. Si les réactifs sont retirés de l'analyseur, les conserver entre 2 et 8 °C (munis de septums et de bouchons de remplacement) en position verticale. Pour les réactifs conservés à l'extérieur de l'analyseur, il est recommandé de les conserver dans leurs portoirs et emballages d'origine afin de les maintenir dans une position verticale. **Si le flacon de microparticules (muni d'un septum) ne reste pas dans une position verticale pendant sa conservation au réfrigérateur à l'extérieur de l'analyseur, le kit de réactifs doit être jeté.** Pour de plus amples informations sur le suivi de la stabilité des réactifs à bord de l'analyseur, se référer au Chapitre 5 du Manuel Technique ARCHITECT.

Indications d'altération des réactifs

Un contrôle doit la valeur se situe en dehors des limites spécifiées peut indiquer une altération des réactifs ou des erreurs de technique. Les résultats des échantillons analysés dans la même série ne sont pas valables et ces échantillons devront être réanalysés. Une recalibration du dosage peut être nécessaire. Pour de plus amples informations sur le dépannage, se référer au chapitre 10 du Manuel Technique ARCHITECT.

FUNCTIONNEMENT DE L'APPAREIL

- Avant d'effectuer le dosage, le fichier du dosage ARCHITECT / Digoxin doit être installé sur l'ARCHITECT / System avec fonction de traitement d'échantillons **URGENTS** à partir de l'ARCHITECT / Assay CD-ROM Addition E. Pour de plus amples informations sur l'installation d'un fichier de dosage ainsi que sur la visualisation et la modification des paramètres de dosage, se référer au Chapitre 2 du Manuel Technique ARCHITECT.
- Pour de plus amples informations sur l'impression des paramètres de dosage, se référer au Chapitre 5 du Manuel Technique ARCHITECT.
- Pour une explication détaillée du fonctionnement de l'analyseur, se référer au Manuel Technique ARCHITECT.
- L'unité de résultat par défaut du dosage ARCHITECT / Digoxin est le ng/ml. Il est également possible de rendre les résultats en mmol/l, en modifiant le paramètre de dosage "Unités de concentration résultat" en "mmol/L". La formule de conversion utilisée par le système est la suivante :
 • (Concentration en ng/ml) x (1,28) = mmol/l

PRÉLEVEMENT ET PRÉPARATION DES ÉCHANTILLONS POUR L'ANALYSE

Types d'échantillons à utiliser

- Les types de tubes d'échantillons suivants ont été vérifiés pour l'utilisation avec le dosage ARCHITECT / Digoxin. Les autres tubes de prélèvement d'échantillons, y compris les tubes séparateurs de gel, n'ont pas été testés avec ce dosage.
 - Sérum humain
 - Plasma humain prélevé sur EDTA potassique, héparinate de lithium ou héparinate de sodium
- Les échantillons de plasma prélevés sur différents types de tubes anticoagulants ne doivent pas être utilisés de manière interchangeable pour le suivi des taux de digoxine.
- Les anticoagulants liquides peuvent avoir un effet diluant entraînant une baisse des concentrations pour certains échantillons de patients.
- L'ARCHITECT / System n'est pas configuré pour détecter le type d'échantillon utilisé pour le dosage. Il revient par conséquent à l'utilisateur de vérifier les types d'échantillons utilisés dans le dosage ARCHITECT / Digoxin.

États des échantillons

- Ne pas utiliser d'échantillons présentant les caractéristiques suivantes :
 - inactivation par la chaleur
 - forte hémolyse (> 750 mg/dl)
 - contamination microbienne évidente

- La performance de ce test n'a pas été établie pour les échantillons prélevés sur des cadavres, ni pour l'utilisation des fluides corporels autres que le sérum ou le plasma humain.
- Pour obtenir des résultats exacts, les échantillons de sérum et de plasma ne doivent pas contenir de fibrine, ni de globules rouges et autres particules en suspension. Les échantillons de sérum provenant de patients sous traitement anticoagulant ou thrombolytique peuvent contenir de la fibrine en raison d'une coagulation incomplète.
- Manipuler les échantillons de patients avec précaution afin d'éviter toute contamination croisée. Il est recommandé d'utiliser des pipettes ou des embouts de pipettes à usage unique.
- Pour obtenir des résultats optimaux, vérifier que les échantillons ne contiennent pas de bulles. Si des bulles sont présentes, les éliminer à l'aide d'un bâtonnet avant l'analyse. Utiliser un bâtonnet neuf pour chaque échantillon afin d'éviter toute contamination croisée.

Préparation pour l'analyse

- Pour le traitement des tubes de prélèvement de sérum et de plasma, suivre les instructions données par le fabricant. La séparation gravimétrique n'est pas suffisante pour la préparation des échantillons.
- Homogénéiser soigneusement les échantillons décongelés en les passant au Vortex à une vitesse faible ou en les retournant 10 fois. Examiner les échantillons. En cas d'apparition de couches ou de stratifications, continuer à mélanger jusqu'à ce que les échantillons soient visiblement homogènes.
- Afin d'obtenir des résultats cohérents, les échantillons doivent être transférés dans des tubes pour centrifugeuse puis centrifugés avant l'analyse dans les cas suivants :
 - les échantillons contiennent de la fibrine, des globules rouges ou des particules en suspension,
 - les échantillons doivent être réanalysés,
 - les échantillons ont été congelés puis décongelés.
- Les échantillons centrifugés présentant une couche lipidique en surface doivent être transférés dans un godet-échantillon ou un tube aliquot. Veiller à transférer exclusivement l'échantillon clarifié sans substances lipémiques.
- Pour l'analyse, transférer l'échantillon clarifié dans un godet-échantillon ou un tube aliquot.

Conservation

- La séparation des globules rouges ou du caillot doit être effectuée dès que possible après le prélèvement.
- Les échantillons séparés du caillot ou des globules rouges peuvent être conservés
 - au maximum pendant 48 heures à température ambiante (entre 15 et 30 °C) ou
 - entre 2 et 8 °C jusqu'à 48 heures.
- Les échantillons sériques ou plasmatiques peuvent être conservés jusqu'à 6 mois à une température inférieure ou égale à -20 °C³
- Éviter plus de 3 cycles de congélation/décongélation.

Transport

- Avant d'expédier des échantillons, il est recommandé de les séparer du caillot ou des globules rouges.
- Lorsque des échantillons sont expédiés, ils doivent être conditionnés et étiquetés conformément à la législation régissant le transport des échantillons cliniques et des substances infectieuses.
- Les échantillons peuvent être expédiés sur de la glace ou de la carbolong. Ne pas dépasser les temps de conservation mentionnés ci-dessus.

PROCÉDURE

Matériel fourni

- 1P32 ARCHITECT / Digoxin Reagent Kit

Matériel nécessaire mais non fourni

- ARCHITECT / System avec fonction de traitement d'échantillons **URGENTS**
- 1L65 ARCHITECT / System **ASSAY CD-ROM** - US - Addition E
- 1L66 ARCHITECT / **ASSAY CD-ROM** WW (excluding US) - Addition E
- 1P32-01 ARCHITECT / Digoxin Calibrators
- 6E20-10 Abbott Immunoassay-MCC (Liquid) ou autres contrôles disponibles dans le commerce
- ARCHITECT / **PRE-TRIGGER SOLUTION**
- ARCHITECT / **TRIGGER SOLUTION**
- ARCHITECT / **WASH BUFFER**
- ARCHITECT / **REACTION VESSELS**
- ARCHITECT / **SAMPLE CUPS**
- ARCHITECT / **SEPTUM**
- ARCHITECT / **REPLACEMENT CAPS**

- Pipettes ou embouts de pipette (facultatif) pour la distribution des volumes spécifiés dans l'écran Demande de patient ou Demande de contrôle.
- Pour de plus amples informations sur le matériel requis pour les procédures de maintenance, se référer au chapitre 9 du Manuel Technique ARCHITECT.

Procédure du dosage

- Avant de charger l'ARCHITECT / Digoxin Reagent Kit sur l'analyseur pour la première fois, le flacon de microparticules doit être homogénéisé afin de remettre en suspension les microparticules qui ont pu se déposer pendant le transport. Après le premier chargement des microparticules, aucune homogénéisation supplémentaire n'est nécessaire.
 - Retourner le flacon de microparticules 30 fois.
 - Examiner le flacon pour s'assurer que les microparticules sont remises en suspension. S'il reste encore des microparticules collées au flacon, continuer à retourner ce dernier jusqu'à ce qu'elles soient complètement remises en suspension.
 - Si les microparticules ne sont pas remises en suspension, NE PAS LES UTILISER. Contacter Abbott Assistance.
 - Une fois que les microparticules ont été remises en suspension, placer un septum sur le flacon. Pour toute information sur la mise en place des septums sur les flacons, se référer au paragraphe **Précautions d'emploi** de cette notice.
- Charger l'ARCHITECT / Digoxin Reagent Kit sur l'ARCHITECT / System avec fonction de traitement d'échantillons **URGENTS**.
 - Vérifier que tous les réactifs requis sont présents.
 - S'assurer que chaque flacon de réactif est recouvert d'un septum.
- Si nécessaire, programmer une calibration.
 - Pour de plus amples informations sur les demandes de calibration, se référer au Chapitre 6 du Manuel Technique ARCHITECT.
- Programmer les analyses.
 - Pour de plus amples informations sur la demande d'analyse d'échantillons de patients et de contrôles, ainsi que sur les procédures de fonctionnement en général, se référer au Chapitre 5 du Manuel Technique ARCHITECT.
 - Le volume minimum requis dans le godet-échantillon est calculé par l'appareil et imprimé sur le rapport Liste des demandes. Ne pas prélever plus de 10 répétitions à partir du même godet-échantillon. Afin de minimiser les effets de l'évaporation, vérifier que le volume d'échantillon adéquat est présent dans le godet-échantillon avant d'effectuer le dosage.
 - Échantillon prioritaire : 100 µl pour le premier dosage ARCHITECT / Digoxin, plus 50 µl pour chaque dosage ARCHITECT / Digoxin supplémentaire effectué à partir du même godet-échantillon.
 - Échantillon de routine analysé dans les 3 heures qui suivent le chargement dans l'analyseur : 150 µl pour le premier dosage ARCHITECT / Digoxin, plus 50 µl pour chaque dosage ARCHITECT / Digoxin supplémentaire effectué à partir du même godet-échantillon.
 - Afin de minimiser les pertes par évaporation, tous les échantillons (échantillons de patients, calibrateurs et contrôles) devront être analysés dans les 3 heures qui suivent leur chargement à bord de l'ARCHITECT / System.
 - En cas d'utilisation de tubes primaires ou aliquots, utiliser la jauge échantillon afin de s'assurer que le volume d'échantillon de patient est suffisant.
 - Préparer les calibrateurs et les contrôles.
 - Homogénéiser les ARCHITECT / Digoxin Calibrators en les retournant délicatement avant l'emploi.
 - Pour obtenir le volume requis des ARCHITECT / Digoxin Calibrators, tenir les flacons à la verticale et distribuer 5 gouttes de chacun des calibrateurs dans les godets-échantillons respectifs.
 - Distribuer 150 µl de chaque contrôle dans les godets-échantillons respectifs.
 - Charger les échantillons.
 - Pour de plus amples informations sur le chargement des échantillons, se référer au chapitre 5 du Manuel Technique ARCHITECT.
 - Appuyer sur la touche LANCER.
 - Pour de plus amples informations sur les principes de fonctionnement, se référer au chapitre 3 du Manuel Technique ARCHITECT.
 - Pour obtenir une performance optimale, il est important de suivre les procédures de maintenance de routine décrites au Chapitre 9 du Manuel Technique ARCHITECT. Si le laboratoire requiert une maintenance plus fréquente, se conformer à ces exigences.

Procédures de dilution des échantillons

- Les échantillons sériques ou plasmatiques avec une concentration en digoxine > 4,00 ng/ml seront annotés ">4,00 ng/ml" et peuvent être dilués manuellement.
- Diluer les échantillons manuellement (1:10) avec le calibrateur A. Ajouter 20 µl d'échantillon de patient à 180 µl de calibrateur A.
- Saisir le facteur de dilution dans l'écran Demande de patient ou Demande de contrôle. L'appareil utilisera ce facteur de dilution afin de calculer automatiquement la concentration de l'échantillon avant la dilution et d'enregistrer le résultat. Le résultat (avant l'application du facteur de dilution) doit être supérieur à 0,30 ng/ml.
- Pour de plus amples informations sur les demandes de dilution, se référer au Chapitre 5 du Manuel Technique ARCHITECT.

Calibration

- Pour effectuer une calibration, analyser les ARCHITECT / Digoxin Calibrators A à F en double. Les calibrateurs doivent être chargés en position prioritaire.
 - Une réplique de chaque niveau de contrôle doit être analysée afin de pouvoir évaluer la calibration du dosage.
 - Programmer les contrôles comme décrit au paragraphe **Procédure du dosage**.
 - S'assurer que les valeurs des contrôles du dosage se situent dans les limites de concentration spécifiées dans la notice des contrôles.
 - Plage de calibration : 0,0 à 4,0 ng/ml.
 - Lorsque la calibration du dosage ARCHITECT / Digoxin est acceptée et mémorisée, tous les échantillons qui suivent peuvent être analysés sans qu'une nouvelle calibration soit nécessaire, sauf si :
 - un kit de réactifs portant un nouveau numéro de lot est utilisé
 - les valeurs des contrôles se situent en dehors des limites spécifiées

PROCÉDURES DU CONTRÔLE DE QUALITÉ

Le contrôle de qualité recommandé pour le dosage ARCHITECT / Digoxin consiste à analyser un échantillon de chaque niveau de contrôle une fois toutes les 24 heures d'utilisation. Si les procédures de contrôle de qualité du laboratoire requièrent une utilisation plus fréquente des contrôles pour vérifier les résultats d'analyses, se conformer à ces exigences. Les contrôles supplémentaires peuvent être effectués conformément à la réglementation en vigueur ou aux exigences relatives à l'accréditation ainsi qu'aux exigences du laboratoire en matière de contrôle de qualité. Les valeurs des contrôles doivent se situer dans les limites acceptables spécifiées dans la notice des contrôles. Si les résultats d'un contrôle ne se situent pas dans ces limites, les résultats des échantillons analysés dans la même série ne sont pas valables et ces échantillons devront être réanalysés. Une recalibration peut être nécessaire.

Vérification des performances du dosage

Pour de plus amples informations sur les protocoles de vérification des performances du dosage mentionnées dans la notice, se référer à l'annexe B du Manuel Technique ARCHITECT. Le dosage ARCHITECT / Digoxin appartient au groupe 2. Utiliser les ARCHITECT / Digoxin Calibrators à la place des MasterCheck comme décrit dans l'annexe B du Manuel Technique ARCHITECT.

RESULTATS

Calculs

Le dosage ARCHITECT / Digoxin utilise une méthode de traitement des données par ajustement de la courbe logistique à 4 paramètres (4PL, pondération en Y) pour créer une courbe de calibration.

Annotations

La rubrique "Annotations" peut contenir des informations sur certains résultats. Une description des annotations qui peuvent apparaître dans cette rubrique est fournie au Chapitre 5 du Manuel Technique ARCHITECT.

Plage de mesure (Domaine de mesure)

La plage de mesure du dosage ARCHITECT / Digoxin est définie comme comprise entre 0,3 et 4,0 ng/ml.

LIMITES DE LA METHODE

- Si les résultats du dosage ARCHITECT / Digoxin ne correspondent pas à l'observation clinique, il est recommandé d'effectuer d'autres tests pour confirmer le résultat.
- Pour établir un diagnostic, les résultats doivent être utilisés conjointement avec d'autres données telles que les symptômes, les résultats d'autres analyses, les résultats de l'examen clinique, etc.
- Les échantillons de plasma prélevés sur différents types de tubes anticoagulants ne doivent pas être utilisés de manière interchangeable pour le suivi des taux de digoxine.

- Les échantillons prélevés sur des patients auxquels ont été administrés des préparations d'anticorps monoclonaux de souris à des fins diagnostiques ou thérapeutiques peuvent contenir des anticorps humains anti-souris (HAMA).^{10,11} De tels échantillons peuvent fournir de fausses valeurs lorsqu'ils sont analysés avec des kits de dosage (tels qu'ARCHITECT / Digoxin) qui utilisent des anticorps monoclonaux de souris.^{10,12}
- Certains dosages immunologiques de la digoxine peuvent entraîner une réactivité croisée avec des métabolites, pouvant provoquer un biais positif des résultats de patients. Se reporter au paragraphe **Spécificité** de la partie **CARACTERISTIQUES SPECIFIQUES** de cette notice pour toute information sur les estimations de réactivité croisée du dosage ARCHITECT / Digoxin avec certains métabolites de la digoxine.
- L'administration de DIGIBIND ou DIGIFAB peut se répercuter sur les valeurs de digoxine obtenues pour les échantillons de patients. Se référer au paragraphe **Substances interférentes** de la partie **CARACTERISTIQUES SPECIFIQUES**.
- Des anticorps hétérophiles présents dans le sérum humain peuvent réagir avec les immunoglobulines des réactifs, interférant avec les dosages immunologiques *in vitro*.¹² La présence d'anticorps hétérophiles dans un échantillon de patient peut entraîner l'obtention de valeurs anormales. Pour établir un diagnostic, de plus amples informations peuvent être nécessaires.
- Se référer à la partie **PRELEVEMENT ET PREPARATION DES ECHANTILLONS POUR L'ANALYSE** de cette notice pour de plus amples informations sur les limites des échantillons.

VALEURS ATTENDUES

Le dosage ARCHITECT / Digoxin dose avec précision des concentrations de digoxine dans le sérum ou le plasma humain à des concentrations jusqu'à 4,0 ng/ml. De nombreuses études ont fait état de la relation qui existe entre les taux sériques de digoxine et sa concentration dans les tissus myocardiques et d'autres tissus. Lors d'une étude pendant laquelle les taux sériques de digoxine ont été déterminés par dosage radioimmunologique, des effets thérapeutiques optimaux sont généralement observés lorsque les concentrations sériques se situent entre 0,8 et 2,0 ng/ml¹³, même si des bénéfices cliniques peuvent déjà être réalisés à des concentrations de sérum ou de plasma inférieures à 0,8 ng/ml.¹⁴ Le risque de toxicité augmente à des niveaux sériques ou plasmatiques supérieurs à 2,0 ng/ml.¹⁴ Les symptômes de toxicité peuvent inclure des troubles gastrointestinaux comme l'anorexie, la nausée, des vomissements et de la diarrhée, des troubles du système nerveux central se manifestant par des troubles de la vision (vue brouillée, xanthopsie), des maux de tête, de la faiblesse, des vertiges, de l'apathie et de la confusion, des troubles du rythme cardiaque et de la tachycardie.¹⁴ Il y a quelques indices montrant que les enfants peuvent tolérer des concentrations sériques ou plasmatiques légèrement plus élevées que les adultes.¹⁴ Il est important de noter que la distinction entre la digitalisation adéquate et la toxicité chez les patients ne peut pas uniquement reposer sur les concentrations en digoxine. La plupart des études montrent un chevauchement significatif des taux toxiques et non toxiques. Les autres facteurs à prendre en considération lors de l'évaluation des doses thérapeutiques appropriées sont le poids corporel, l'âge du patient, la fonction rénale, la concomitance d'autres maladies, la prise simultanée de médicaments et d'autres facteurs cliniques.¹⁴ Consulter la notice du fabricant. Chaque laboratoire doit établir ses propres plages thérapeutiques (de référence) pour la digoxine.

CARACTERISTIQUES SPECIFIQUES

La performance a été évaluée sur l'analyseur ARCHITECT /2000²⁰ System.

Reproductibilité

Le dosage ARCHITECT / Digoxin est conçu de manière à fournir une reproductibilité $\leq 10\%$ (CV total). Une étude a été menée sur la base du Document EP5-A2 du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI).¹⁵ Les Abbott Immunoassay-MCC (LiquiD) (Niveaux 1, 2 et 3) ainsi que trois panels de sérum humain ont été analysés en double, sur deux analyseurs, en utilisant 2 lots de réactifs, 2 fois par jour, pendant 20 jours. Une seule courbe de calibration a été utilisée pour chaque lot de réactifs pendant toute l'étude. Les données sont résumées dans le tableau suivant.*

Echant	Appareil	Lot de		Moyenne	Intra-série		Total		
		réactifs	n		(ng/ml)	E.T.	CV (%)	E.T.	CV (%)
Niveau 1	1	1	1	80	0,81	0,020	2,5	0,024	3,0
		2	2	80	0,82	0,020	2,4	0,027	3,3
Niveau 2	1	1	1	80	1,72	0,032	1,9	0,053	3,1
		2	2	80	1,73	0,030	1,7	0,040	2,3
Niveau 3	1	1	1	80	2,88	0,069	2,4	0,075	2,6
		2	2	80	2,89	0,055	1,9	0,059	2,0
Panel 1	1	1	1	80	0,66	0,024	3,6	0,029	4,4
		2	2	80	0,68	0,017	2,5	0,025	3,7
Panel 2	1	1	1	80	1,70	0,039	2,3	0,059	3,5
		2	2	80	1,72	0,026	1,5	0,035	2,0
Panel 3	1	1	1	80	3,53	0,064	1,8	0,118	3,3
		2	2	80	3,57	0,056	1,6	0,087	2,4

* Données indicatives ; les résultats obtenus peuvent varier d'un laboratoire à l'autre.

Récupération

Le dosage ARCHITECT / Digoxin est conçu de manière à présenter une récupération moyenne globale de $100 \pm 10\%$.

Une étude a été menée sur cinq échantillons de sérum contenant des niveaux bas de digoxine et chaque échantillon a été supplémenté avec de la digoxine à des concentrations de 0,0 ; 0,5 ; 1,0 ; 2,0 et 3,0 ng/ml. Les concentrations en digoxine ont été déterminées à l'aide du dosage ARCHITECT / Digoxin et le pourcentage de récupération résultant a été calculé. Le pourcentage de récupération individuel du dosage ARCHITECT / Digoxin pour le sérum était compris entre 96,0 % et 104,3 %. Le pourcentage de récupération moyen du dosage ARCHITECT / Digoxin pour le sérum était compris entre 98,9 % et 102,9 % avec une moyenne globale pour le sérum de 101,8 %.*

* Données indicatives ; les résultats obtenus peuvent varier d'un laboratoire à l'autre.

Parallélisme de dilution

Le dosage ARCHITECT / Digoxin a été conçu de manière à ce que la moyenne de déviation par rapport à la linéarité soit de $\pm 10\%$ pour les concentrations supérieures à 1,0 ng/ml ou $\pm 0,1$ ng/ml à des concentrations inférieures à 1,0 ng/ml.

Une étude du parallélisme de dilution a été effectuée en diluant cinq échantillons de sérum avec l'ARCHITECT / Digoxin Calibrator A. Les concentrations en digoxine ont été déterminées à l'aide du dosage ARCHITECT / Digoxin et le pourcentage de déviation de la linéarité résultant ou la différence de concentration a été calculé(e). Pour les échantillons dilués dont les concentrations étaient supérieures à 1,0 ng/ml, le pourcentage de déviation par rapport à la linéarité était compris entre -4,0 et 8,8 % avec une moyenne du pourcentage de déviation par rapport à la linéarité de 2,0 %. Pour les échantillons dilués dont les concentrations étaient inférieures à 1,0 ng/ml, les concentrations se situaient à $\pm 0,1$ ng/ml des résultats attendus.* Le domaine de mesure linéaire du dosage est compris entre 0,3 et 4,0 ng/ml.

* Données indicatives ; les résultats obtenus peuvent varier d'un laboratoire à l'autre.

Sensibilité

La limite de détection du dosage ARCHITECT / Digoxin est $\leq 0,3$ ng/ml. Limite de blanc (LoB) et limite de détection (LD).

La LoB et la LD du dosage ARCHITECT / Digoxin ont été déterminées selon les recommandations du Document EP17-A16 du CLSI en utilisant des proportions de résultats faussement positifs (α) inférieures à 5 % et des proportions de résultats faussement négatifs (β) inférieures à 5 %. Ces constatations ont été établies en se basant sur un blanc (60 répliques) et quatre échantillons ayant de faibles concentrations en digoxine (15 répliques chacun) : LoB = 0,07 ng/ml et LD = 0,09 ng/ml.*

* Données indicatives ; les résultats obtenus peuvent varier d'un laboratoire à l'autre.

Annex IV : Fiche technique de l'analyseur Cobas Integra 400+

0030757836322CONV13.0

DIG

Digoxin

Order information

REF	CONTENT	Analyzer(s) on which cobas c pack(s) can be used
20737836 322	Digoxin (250 tests)	System-ID 07 3783 6 COBAS INTEGRA 400 plus COBAS INTEGRA 800
03375790 190	Preciset TDM I Calibrators A-F (6 x 1 x 5 mL) Diluent (1 x 10 mL)	System-ID 07 6830 8
04521536 190	TDM Control Set Level I (2 x 5 mL) Level II (2 x 5 mL) Level III (2 x 5 mL)	System-ID 07 6900 2 System-ID 07 6901 0 System-ID 07 6902 9

English

System information

Test DIGM, test ID 0-283

Intended use

In vitro diagnostic test for the quantitative determination of digoxin in serum or heparinized plasma on COBAS INTEGRA systems.

Summary

Digoxin is a digitalis glycoside that exerts a positive inotropic effect that subsequently increases the contractile response of the myocardial fibers in patients experiencing congestive heart failure.¹ Cardiac glycosides also can produce several electrophysiologic effects that produce negative chronotropic effects on the human heart.² These effects tend to slow down and regulate a rapid, irregular beat like that found in patients experiencing cardiac arrhythmias.³

Test principle

Kinetic interaction of microparticles in solution (KIMS) as measured by changes in light transmission.

The COBAS INTEGRA Digoxin test is a homogeneous immunoassay based on the principle of measuring changes in scattered light or absorbance which result when activated microparticles aggregate. The microparticles are coated with digoxin and rapidly aggregate in the presence of a digoxin antibody solution. When a sample containing digoxin is introduced, the aggregation reaction is partially inhibited, slowing the rate of the aggregation process. Antibody bound to sample drug is no longer available to promote microparticle aggregation, and subsequent particle lattice formation is inhibited. Thus, a classic inhibition curve with respect to digoxin concentration is obtained, with the maximum rate of aggregation at the lowest digoxin concentration. By monitoring the change in scattered light or absorbance, a concentration-dependent curve is obtained.

Reagents - working solutions

R1	Antibody reagent Anti-digoxin monoclonal antibody (mouse) and human-sourced material in buffer with preservative.
SR	Microparticle reagent Conjugated digoxin derivative microparticles, human-sourced material, and preservative.

R1 is in position B and SR is in position C.

Precautions and warnings

Pay attention to all precautions and warnings listed in Section 1 / Introduction of this Method Manual.

For USA: For prescription use only.

Reagent handling

COBAS INTEGRA 400 plus analyzers
The cobas c pack has to be mixed daily before use. Place the cobas c pack on the Cassette Mixer and mix for 1 minute.

COBAS INTEGRA 800 analyzers
The reagent is automatically mixed for 2 minutes after cobas c pack puncture and for half a minute during Begin of Day.

Storage and stability

Shell life at 2-8 °C
See expiration date on cobas c pack label

cobas[®]
Therapeutic drug monitoring

0030757836322CONV13.0

DIG

Digoxin

COBAS INTEGRA 800 test definition

Measuring mode	Absorbance
Reaction mode	R1-S-SR
Wavelength A	659 nm
Reading cycle/blank/test	45/98
Unit	ng/mL
Pipetting parameters	
	Diluent (H ₂ O)
R1	84 µL 6 µL
Sample	5.5 µL 6 µL
SR	22 µL 6 µL
Total volume	129.5 µL

Calibration

Calibrators	Preciset TDM I Calibrators A-F
Calibration mode	Log ₁₀ /log 4
Calibration replicate	Duplicate recommended
Deviation low/high	< 10 % at 1 ng/mL (1.3 nmol/L)
Calibration interval	
COBAS INTEGRA 400 plus analyzers	Each lot, every 14 days, and as required following quality control procedures
COBAS INTEGRA 800 analyzers	Each lot, every 12 weeks, and as required following quality control procedures

A calibration curve must be prepared using the Preciset TDM I calibrators. Calibrators must be placed from the highest concentration (F) first, to the lowest (A) last, on the CALQC rack. This curve is retained in memory by the COBAS INTEGRA systems and recalled for later use.

Traceability: The Preciset TDM I calibrators are prepared to contain known quantities of digoxin in normal human serum and are traceable to USP reference standards.

Note

Calibrators should be assayed within 2 hours after placing on-board the instrument.

Quality control

Quality control	TDM Control Set
Control interval	24 hours recommended
Control sequence	User defined
Control after calibration	Recommended

For quality control, use control materials as listed in the "Order information" section. In addition, other suitable control material can be used.

The control intervals and limits should be adapted to each laboratory's individual requirements. Values obtained should fall within the defined limits. Each laboratory should establish corrective measures to be taken if values fall outside the defined limits.

Follow the applicable government regulations and local guidelines for quality control.

Note

Controls should be assayed within 2 hours after placing on-board the instrument.

Calculation

COBAS INTEGRA analyzers automatically calculate the analyte concentration of each sample. For more details, please refer to Data Analysis in the Online Help (COBAS INTEGRA 400 plus/800 analyzers).
Conversion factor: ng/mL x 1.28 = nmol/L

cobas[®]
Therapeutic drug monitoring

Limitations - interference

See the Analytical specificity section of this method sheet for information on substances tested for cross-reactivity in this assay. There is the possibility that other substances and/or factors may interfere with the test and cause erroneous results (e.g., technical or procedural errors).

Specimens with assay values greater than the highest calibrator are flagged by the system. To obtain a specimen digoxin concentration value if this occurs, dilute the original specimen manually with the Preciset TDM I diluent (0 ng/mL), re-assay, and multiply the result by the appropriate dilution factor.

Certain samples have been observed to cause nonspecific microparticle aggregation in the COBAS INTEGRA Digoxin assay. As a precaution, samples flagged as < 0.2 ng/mL (< 0.26 nmol/L) TEST RANGE on all COBAS INTEGRA analyzers should be re-assayed and the absorbance unit change (ΔA) obtained. Refer to the COBAS INTEGRA systems User Manual, Operation-Results for instructions regarding how to access raw data. The observed ΔA should be compared to the ΔA of the 0 ng/mL calibrator, obtained by highlighting (as described above) the calibrator in the curve results. The Results window must be in the "View - By Time Complete" mode in order to view the calibration data. Samples with absorbance unit changes (ΔA) of more than 0.020 above the 0 ng/mL calibrator rate should be retested by another established method before reporting digoxin results. In rare instances (< 1%), the nonspecific aggregation could cause erroneously low but unflagged results. Any digoxin result which is inconsistent with the clinical presentation should be confirmed by retesting with an alternate method.

Uzara and Pentoxifylline were identified to cause falsely elevated digoxin values at concentrations of the recommended daily dose.

Hydrocortisone does not interfere at concentrations of the recommended daily dose, however, at higher doses, as administered in life-threatening situations, hydrocortisone may cause elevated digoxin values.

Endogenous substances such as DLIF (digoxin-like immunoreactive factors) may interfere with this assay by yielding lightly elevated results.^{5,6,7} DLIF are observed primarily in samples from neonates, pregnant women, and acute care patients with renal or hepatic failure.

The manufacturer of Digoxin Immune Fab (Antibody fragment therapy) has stated that no immunoassay technique is suitable for quantitating digoxin in serum from patients undergoing this treatment.⁸

Falsely elevated digoxin values might be obtained in patients undergoing digoxin therapy.

As with many mouse monoclonal antibody-based immunoassays, the COBAS INTEGRA Digoxin cobas c pack may experience interference with samples containing human anti-mouse antibodies (HAMA). Samples suspected of containing HAMA (e.g., from patients with history of mouse monoclonal antibody exposure) should be tested by an alternate method.

Serum/plasma

Criterion: Recovery within ± 10 % of initial value at a digoxin concentration of 1 ng/mL (1.28 nmol/L).

Icterus:⁹ No significant interference up to a bilirubin concentration of 431 µmol/L or 25.2 mg/dL.

Hemolysis:⁹ No significant interference up to a hemoglobin concentration of 2000 mg/dL.

Lipemia:⁹ No significant interference up to a triglycerides concentration of 2400 mg/dL.

Total protein: No significant interference up to a total protein concentration of 14 g/dL.

Specimens containing bilirubin, triglycerides, and/or hemoglobin at levels above those listed above should be diluted with the Preciset TDM I diluent (0 ng/mL), assayed, and the results multiplied by the appropriate dilution factor.

In very rare cases, gammopathy, in particular type IgM (Waldenström's macroglobulinemia), may cause unreliable results.¹⁰

For diagnostic purposes, the results should always be assessed in conjunction with the patient's medical history, clinical examination and other findings.

ACTION REQUIRED

Special Wash Programming: The use of special wash steps is mandatory when certain test combinations are run together on COBAS INTEGRA analyzers. Refer to the CLEAN Method Sheet for further instructions and for the latest version of the Extra wash cycle list.

(Roche®).

010073783622CONV13.0

DIG

Digoxin

Where required, special wash/carry-over evasion programming must be implemented prior to reporting results with this test.

Limits and ranges**Measuring range**

0.3-5.0 ng/mL (0.38-6.4 nmol/L) (defined by the Limit of Detection and the upper limit of linearity).

Lower limits of measurement

Limit of Blank, Limit of Detection and Limit of Quantitation/functional sensitivity

Limit of Blank = 0.2 ng/mL (0.26 nmol/L)

Limit of Detection = 0.3 ng/mL (0.38 nmol/L)

Limit of Quantitation = 0.4 ng/mL (0.51 nmol/L)

The Limit of Blank and Limit of Detection were determined in accordance with the CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) EP17-A requirements.

The Limit of Quantitation was determined using the result of functional sensitivity testing.

The Limit of Blank is the 95th percentile value from n ≥ 60 measurements of analyte-free samples over several independent series. The Limit of Blank corresponds to the concentration below which analyte-free samples are found with a probability of 95 %.

The Limit of Detection is determined based on the Limit of Blank and the standard deviation of low concentration samples.

The Limit of Detection corresponds to the lowest analyte concentration which can be detected (value above the Limit of Blank with a probability of 95 %).

The Limit of Quantitation is the lowest analyte concentration that can be reproducibly measured with a between-run coefficient of variation of ≤ 20 %. It has been determined using low concentration digoxin samples.

Expected values

Accurate determination of a patient's sample digoxin concentration is necessary because of the extremely narrow therapeutic range of this drug. In addition, the significant variability of patient response even under similar dosing regimens often produces unpredictable responses in serum digoxin concentrations.¹¹ Ratios of heart/serum digoxin levels may vary between 17:1 and 35:1.¹²

A relationship between serum levels of digoxin and therapeutic or toxic effects has been demonstrated in numerous studies.^{13,14,15} Therapeutic effects are seen with concentrations between approximately 0.8-2 ng/mL (1.0-2.6 nmol/L). Serum digoxin concentrations above 2 ng/mL (2.6 nmol/L) are associated with symptoms of toxicity, while concentrations less than 0.8 ng/mL (1.0 nmol/L) are generally not effective.¹⁶

Based on actual new ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008 a therapeutic concentration range for digoxin of 0.6-1.2 ng/mL (0.77-1.5 nmol/L) is recommended.¹⁷ Increased risk of mortality was observed for digoxin concentration of 1.2 ng/mL (1.5 nmol/L) and higher.¹⁸

The evaluation of test results should consider additional factors including age, renal function, and clinical symptoms of the patient.^{15,14,15}

Studies performed on the COBAS FARA II analyzer, using cassette COBAS INTEGRA Digoxin reagents have shown the immunoreactivity of digoxin and its primary metabolites (digoxigenin-bis-digoxoside, digoxigenin mono-digoxoside, and digoxigenin) parallel the cardioactivity of these compounds.¹⁹

Each laboratory should investigate the transferability of the expected values to its own patient population and if necessary determine its own reference ranges.

Specific performance data

Representative performance data on the COBAS INTEGRA analyzers are given below. Results obtained in individual laboratories may differ.

Precision

Precision was determined using controls in accordance with the NCCLS EP5-T2²⁰ requirements with repeatability (n = 80) and intermediate precision (2 aliquots per run, 2 runs per day, 20 days). The following results were obtained on a COBAS INTEGRA 700 analyzer.

2016-12, V 13.0 English

cobas[®]
Therapeutic drug monitoring

Repeatability	Mean ng/mL (nmol/L)	SD ng/mL (nmol/L)	CV %
Level 1	0.9 (1.1)	0.06 (0.08)	6.8
Level 2	1.6 (2.1)	0.08 (0.10)	5.0
Level 3	2.8 (3.6)	0.10 (0.13)	3.4

Intermediate precision	Mean ng/mL (nmol/L)	SD ng/mL (nmol/L)	CV %
Level 1	0.9 (1.1)	0.08 (0.10)	9.7
Level 2	1.6 (2.1)	0.10 (0.13)	6.1
Level 3	2.8 (3.6)	0.11 (0.14)	3.9

Method comparison

Digoxin values for human serum samples obtained on a COBAS INTEGRA 700 analyzer using the COBAS INTEGRA Digoxin reagent (y) were compared with those determined using commercially available methods (x).

	AxSYM Digoxin II	TDx
Sample size (n)	88	63
Range of values	min. 0.37 ng/mL max. 2.94 ng/mL	0.08 ng/mL 2.90 ng/mL
Slope	0.858	0.981
Intercept	0.142 ng/mL	0.281 ng/mL
Correlation coefficient	0.959	0.967

Analytical specificity

The following cross-reactive substances were evaluated on the COBAS INTEGRA systems in normal human serum spiked with digoxin at 1.9 ng/mL (2.4 nmol/L). Each substance was tested at 10 times the highest concentration for its therapeutic or normal range, as per the protocol described by NCCLS.²¹ The imprecision of the assay was taken into account when determining cross-reactivity.

$$\text{Cross-reactivity (\%)} = \frac{100 \times (\text{analytical result} - \text{analyte concentration})}{\text{concentration of interferent}}$$

Drug	Level tested ng/mL	Cross-reactivity %
β-Acetyldigoxin	2.0	84.0
Digitoxin	48.8	7.7
Digitoxigenin	39	1.2
Digoxigenin	25	6.2
Digoxigenin bis-digtoxose	2	115.0
Digoxigenin mono-digtoxose	2	112.2
Dihydrodigoxin	20	3.0
β-Methylidigoxin	1	110.3

Previously, the following structurally related or potentially co-administered compounds were tested on the COBAS FARA II analyzer using normal human serum spiked with digoxin at 2 ng/mL (2.6 nmol/L).

Drug	Level tested ng/mL	Cross-reactivity %
Canrenone	10000	< 0.001
Dehydroisoandrosterone	10000	< 0.03
Digitoxose	10000	< 0.03
Estradiol	10000	< 0.03
Estriol	10000	< 0.03
Hydrocortisone	10000	< 0.03

2016-12, V 13.0 English

3 / 4

DIG

010073783622CONV13.0

DIG

Digoxin

Drug	Level tested ng/mL	Cross-reactivity %
11-Hydroxyprogesterone	10000	< 0.03
17-Hydroxyprogesterone	10000	< 0.03
Prednisolone	10000	< 0.03
Prednisone	10000	< 0.03
Progesterone	10000	< 0.03
Spirolactone	10000	< 0.03

Any modification of the instrument as set forth in this labeling requires validation by the laboratory.

References

- Lee KS, Klaus W. The subcellular basis for the mechanism of inotropic action of cardiac glycosides Pharmacol Rev 1971;23:193-261.
- Hoffman BF. In: Fisch C, Surawicz B, eds. Effects of digitalis on electrical activity of cardiac fibers. Digitalis. New York, NY: Grune and Stratton 1969:93-109.
- Moe GK, Farah AE. In: Goodman LS, Gilman A, eds. Digitalis and allied cardiac glycosides. The Pharmacologist Basis of Therapeutics. New York, NY: MacMillan Company 1970.
- Valdes R Jr, Jortani S, Gheorghide M. Standards of laboratory practice: cardiac drug monitoring. Clin Chem 1998;44(5):1096-1109.
- Keys PW, Stafford RW. In: Taylor WJ, Finn AL, eds. Individualizing Drug Therapy. Practical Applications of Drug Monitoring. New York, NY: Gross Townsend Frank Inc 1981:vol 3:1-21.
- Valdes R Jr. Endogenous digoxin-like immunoreactive factors: Impact on digoxin measurements and potential physiological implications. Clin Chem 1985;31:1525-1532.
- Scholer A, Boecker J, Engelmayer U, et al. Comparability of a new tubidimetric digoxin test with other immunochemical tests and with HPLC - a multicenter evaluation. Clin Chem 1997;43:92-99.
- Digibind Product Information. Burroughs Wellcome Co. Research Triangle Park, NC 1990.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.
- Lindenbaum J, Mellow MH, Blackstone MO, et al. Variation in the biologic availability of digoxin from four preparations. New Engl J Med 1971;285:1344-1347.
- Doherty JE, Perkins WH, Flanagan WJ. The distribution and concentration of titrated digoxin in human tissues. Ann Intern Med 1967;66:116.
- Reuning RH, Sams RA, Notari RE. Role of pharmacokinetics in drug dosage adjustment. I. Pharmacokinetic effect and apparent volume of distribution of digoxin. J Clin Pharmacol 1973;13:127-141.
- Whiting B, Sumner DJ, Goldberg A. An assessment of digoxin radioimmunoassay. Scott Med J 1973;18:69-74.
- Huffman DH, Crow JW, Pentikainen P, et al. Clinical cardiac status, laboratory parameters and digoxin usage. Am Heart J 1976;91:28.
- Smith TW, Haber E. Digoxin intoxication: the relationship of clinical presentation to serum digoxin concentration. J Clin Invest 1970;49:2377-2386.
- Dickstein K, Cohen-Solal A, Filippatos G, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2008: the Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2008 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association of the ESC (HFA) and endorsed by the European Society of Intensive Care Medicine (ESICM). Eur Heart J 2008;29:2388-2442.
- Rathore SS, Curtis JP, Wang Y, et al. Association of serum digoxin concentration and outcomes in patients with heart failure. JAMA 2003;289(7):871-876.

DIG

4 / 4

cobas[®]
Therapeutic drug monitoring

- Bongura E, Law T, Rifai N. Assessment of the immunoreactivity of digoxin metabolites and the cross-reactivity with digoxin-like immunoreactive factors in the Roche-TDM OnLine digoxin assay. Ther Drug Monit 1995;17:532-537.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. User Evaluation of Precision Performance of Clinical Chemistry Devices. Tentative Guideline. Villanova, PA.: NCCLS;1992;4(12). NCCLS Publication EP5-T2.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. Interference Testing in Clinical Chemistry; Proposed Guideline. Villanova, PA.: NCCLS; 1986;6(13). NCCLS Publication EP7-P.

A point (period/stop) is always used in this Method Sheet as the decimal separator to mark the border between the integral and the fractional parts of a decimal numeral. Separators for thousands are not used.

Symbols

Roche Diagnostics uses the following symbols and signs in addition to those listed in the ISO 15223-1 standard:

	Contents of kit
	Volume after reconstitution or mixing
	Global Trade Item Number

FOR US CUSTOMERS ONLY: LIMITED WARRANTY

Roche Diagnostics warrants that this product will meet the specifications stated in the labeling when used in accordance with such labeling and will be free from defects in material and workmanship until the expiration date printed on the label. THIS LIMITED WARRANTY IS IN LIEU OF ANY OTHER WARRANTY, EXPRESS OR IMPLIED, INCLUDING ANY IMPLIED WARRANTY OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR PARTICULAR PURPOSE. IN NO EVENT SHALL ROCHE DIAGNOSTICS BE LIABLE FOR INCIDENTAL, INDIRECT, SPECIAL OR CONSEQUENTIAL DAMAGES.

COBAS, COBAS C, COBAS INTEGRA and PRECISET are trademarks of Roche. All other product names and trademarks are the property of their respective owners. Additions, deletions or changes are indicated by a change bar in the margin. © 2016, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com
Distribution in USA by:
Roche Diagnostics, Indianapolis, IN
US Customer Technical Support 1-800-428-2338



2016-12, V 13.0 English

Annexe V : Demande d'autorisation d'accès au service de Néonatalogie.

Dr BELAZOUGUI Ourdia
MAHU en Toxicologie
Laboratoire de Toxicologie
CHU Tizi Ouzou

Tizi-Ouzou, le 14/01/2019

A Madame le chef de service de Néonatalogie
du CHU Tizi-Ouzou

Objet : Demande d'autorisation d'accès au service

Madame,

Je viens la présente vous demander de bien vouloir autoriser les internes, DAOUDI Amel, LADDI Yacine et MEZIANI Ludmila à accéder au service de Néonatalogie afin de consulter les dossiers des patients hospitalisés à votre niveau.

Dans l'attente d'une réponse favorable, veuillez agréer madame mes sincères respects.

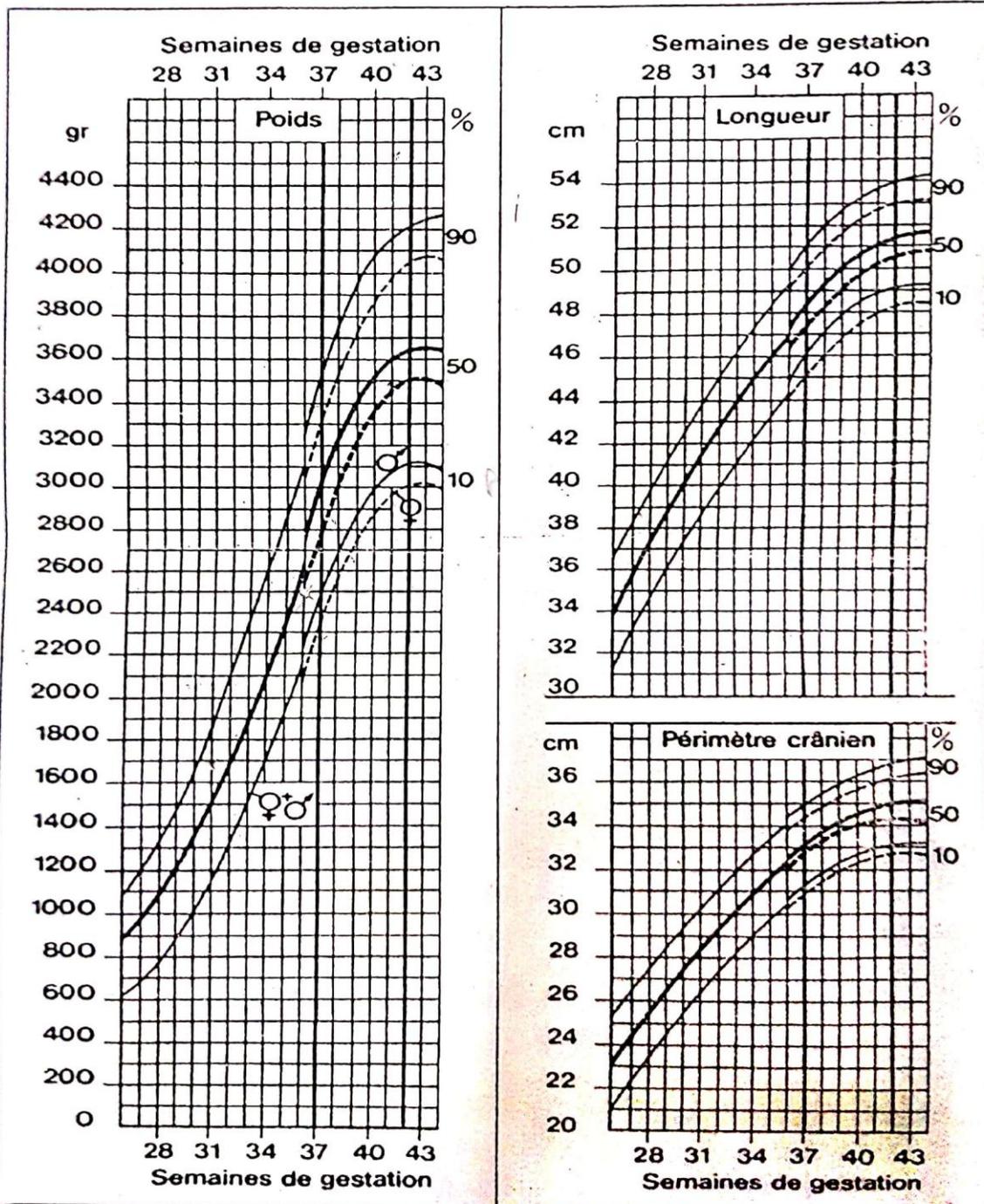
Dr. H. HADDOU
PÉDIATRE

O.BELAZOUGUI

CHU TIZI-OUZOU
Laboratoire de Biologie
Dr BELAZOUGUI Fps HEDJEN
Maître Assurante en Toxicologie

Annexe VI: Courbe de croissance néonatale de LUBCHENCO.

COURBES DE LUBCHENCO



Annexe VII : Définition de la CIM-10.

Centres collaborateurs de l'OMS pour la Classification des Maladies

Rapport de la Conférence internationale pour la Dixième Révision de la Classification internationale des Maladies

Liste des catégories à trois caractères

Table analytique des inclusions et des sous-catégories à quatre caractères

I	Certaines maladies infectieuses et parasitaires
II	Tumeurs
III	Maladies du sang et des organes hématopoïétiques et certains troubles du système immunitaire
IV	Maladies endocriniennes, nutritionnelles et métaboliques
V	Troubles mentaux et du comportement
VI	Maladies du système nerveux
VII	Maladies de l'œil et de ses annexes
VIII	Maladies de l'oreille et de l'apophyse mastoïde
IX	Maladies de l'appareil circulatoire
X	Maladies de l'appareil respiratoire
XI	Maladies de l'appareil digestif
XII	Maladies de la peau et du tissu cellulaire sous-cutané
XIII	Maladies du système ostéo-articulaire, des muscles et du tissu conjonctif
XIV	Maladies de l'appareil génito-urinaire
XV	Grossesse, accouchement et puerpéralité
XVI	Certaines affections dont l'origine se situe dans la période périnatale

CLASSIFICATION INTERNATIONALE DES MALADIES

XVII	Malformations congénitales et anomalies chromosomiques
XVIII	Symptômes, signes et résultats anormaux d'examen cliniques et de laboratoire, non classés ailleurs
XIX	Lésions traumatiques, empoisonnements et certaines autres conséquences de causes externes
XX	Causes externes de morbidité et de mortalité
XXI	Facteurs influant sur l'état de santé et motifs de recours aux services de santé

Morphologie des tumeurs

Listes spéciales pour la mise en tableaux des causes de mortalité et de morbidité

Définitions

Règlement relatif à la Nomenclature

Tableau d'analyse n.nés 35 (2) - Microsoft Excel

Accueil Insertion Mise en page Formules Données Révision Affichage

Calibri 11

Coller Presse-p... Police

Renvoyer à la ligne automatiquement Fusionner et centrer

Standard

Mise en forme conditionnelle Mettre sous forme de tableau Styles de cellules

Insérer Supprimer Format

Trier et Rechercher et filtrer Édition

Avertissement de sécurité La mise à jour automatique des liens a été désactivée Options...

L9 DYSTOCIQUE

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	Code	Age (jou	Sexe	Poids à la nais	Taille (cm)	Prématurité	Alimentatio	Etat clinique	Trt à la digo	Autres t	Identification du trt	Voie d'accouchem	Age gestatio
2	1	7	F	2,5	46	OUI	Non précis	Prématurité + SDR	NON	OUI	Amikacine + Amoxicilline + Cafeine + PTC	HAUTE	
3	3	6	M	1,705	43	OUI	Non précis	Prématurité + SDR + ICM	NON	OUI	Claforan + Amikacine + Amoxicilline + Cafeine	BASSE	
4	5	2	M	3	50	NON	Maternel	ICM + Uropathie + IRA II	NON	OUI	Claforan + Amikacine + Proclafalgan + Lasilix + Colistine	HAUTE	
5	6	2	F	3,4	51	NON	Non précis	ICM à BL avec constellation ABO	NON	NON	PTC	BASSE	
6	7	6	M	1,955	44	OUI	Maternel	SDR	NON	OUI	Amoxicilline + Claforan + Gentamycine + Cafeine + Ranitidine + Calcial + HPV + Ferrum	BASSE	
7	8	4	F	3,59	49	NON	Maternel	ICM à BL	NON	NON	PTI	BASSE	
8	9	2	M	3,535	50	NON	Maternel	SDR	NON	OUI	Claforan + Amikacine + Ranitidine	BASSE	
9	10	18	F	3,11	48	OUI	Maternel	Convulsions néonatales	NON	OUI	Depakine + Gardéna + Rivotril + Kepam + Biotine + Ranitidine + Claforan + Amikacine + Pyridoxine + Lederfoline	DYSTOCIQUE	
10	13	12	F	3,06	50	NON	Maternel	DSH + IRA III + HyperK	NON	OUI	Claforan + Vancomycine + Amikacine + Lasilix	DYSTOCIQUE	
11	14	4	M	4,15	52	NON	Artificiel	Risque infectieux + (Bradycardie; défaut de croissan	NON	OUI	Amoxicilline + Amikacine + vit K	HAUTE	
12	15	6	F	3,3	50	NON	Maternel	ictère grave à BL	NON	NON	Albumine + PTI	BASSE	
13	16	18	M	3,21	57	NON	Artificiel	Virose respiratoire + décompensation cardiaque	NON	OUI	Claforan + Vancomycine + Lopril + Lasilix	HAUTE	
14	17	13	M	2,74	48	NON	Artificiel	Etat de choc / IR	NON	OUI	Claforan + Amikacine + vit K + Vancomycine + HHC + Dobutamine + Dopamine	HAUTE	
15	19	2	M	3,6	50	NON	Artificiel	SDR	NON	OUI	Amoxicilline + Claforan + Amikacine + Ranitidine	HAUTE	
16	20	3	F	4,1	52	NON	Maternel	ICM à BL + Anémie	NON	NON	Albumine + PTC	BASSE	
17	21	7	M	3,6	52	NON	Maternel	ICM à BL	NON	NON	PTI	BASSE	
18	24	4	F	2,04	51	OUI	Artificiel	Prématurité + ICM à BL	NON	NON	PTI	BASSE	
19	25	6	M	3,165	51	NON	Maternel	SDR compliqué d'un pneumomediastin	NON	OUI	Claforan + Vancomycine + Ranitidine + PTC	HAUTE	
20	26	6	M	1,8	42	OUI	Mixte	Rsq. infect. + Retard crois. IU harmo. (Prématurité)	NON	OUI	Amoxicilline + Amikacine + Calcial + HPV	HAUTE	
21	28	9	F	2,2	43	OUI	Mixte	ICM à BL	NON	NON	PTC	BASSE	
22	29	5	M	3,01	51	NON	Maternel	ICM + Hypothyroïdie	NON	OUI	Levothyrox	HAUTE	
23	30	5	F	3,325	52	NON	Maternel	Risque infectieux	NON	OUI		BASSE	
24	31	19	M	3,705	52,5	NON	Non précis	Bosse pariétale + Discrète cellulite en regard	NON	OUI	Augmentin	HAUTE	
25	34	11	M	3,675	49	NON	Maternel	ICM à BL	NON	NON	PTC	BASSE	
26	36	4	M	2,85	50	NON	Maternel	ICM à BL	NON	OUI	PTI	BASSE	
27	37	28	M	4,565	54	NON	Maternel	Virose respiratoire sévère	NON	OUI		BASSE	
28	39	28	F	3,185	50	NON	Maternel	SDR	NON	OUI	Claforan + Amoxicilline + Amikacine + Erybesan	HAUTE	
29	41	18	M	4,1	52	NON	Mixte	Virose respiratoire sévère compliquée	NON	OUI	Claforan + Amoxicilline + Amikacine + HydroCortisone puis Josacine	BASSE	
30	45	5	M	4,4	55	NON	Artificiel	SDR + ictère à BL	NON	OUI	Claforan + Amikacine	HAUTE	
31	46	4	F	2,845	48	NON	Maternel	Risque infectieux + ICM	NON	OUI	Amoxicilline + Amikacine	BASSE	
32	48	8	F	2,17	48	OUI	Mixte	ICM généralisé	NON	NON	Calcial + HPV + vit K + PTC	HAUTE	
33	49	12	M	3,1	47	NON	Mixte	Méningite néonatale	NON	OUI	Claforan + Amikacine + Ciprofon + Amoxicilline + Josacine	HAUTE	
34	50	4	M	2,7	50	OUI	Maternel	Prématurité + ICM + Incompatibilité ABO	NON	NON	vit K + PTC	BASSE	
35	52	4	F	2,7	46	NON	Mixte	SDR + Cardiopathie congénitale + ICM à BL	NON	OUI	Gentamycine + Claforan + Ranitidine + PTC	HAUTE	
36	54	12	M	3,3	52	NON	Maternel	ICM + Infection urinaire à Klebsiella	NON	OUI	Claforan + Gentamycine + Amikacine	HAUTE	

Prêt

Annexe VIII : Tableau d'analyse des résultats de l'étude

Annexes

Tableau d'analyse n.nés 35 (2) - Microsoft Excel

Accueil Insertion Mise en page Formules Données Révision Affichage

Calibri 11 A A

Coller Presse-p... Police

Renvoyer à la ligne automatiquement Fusionner et centrer

Standard

Mise en forme conditionnelle Mettre sous forme de tableau Styles de cellules

Insérer Supprimer Format

Trier et Rechercher et filtrer sélectionner

Édition

Avertissement de sécurité La mise à jour automatique des liens a été désactivée Options...

X39

	L	M	N	O	P	Q	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	aa
	Voie d'accouchem	Age gestationnel	Grossesse géme	Grossesse multi	Pathologie gravid	Identification de la patho.G	Pathologie associ	Identification de la p	Trt associé	ATCD	Identification de l'ATCD		COBAS1	ARCHITI	cobas2	ar
1	HAUTE	36	NON	NON	NON	NON	NON	NON		NON			0,15	0		
2	BASSE	31	OUI	OUI	NON	NON	NON			NON			0,15	0,17		
3	HAUTE	37	NON	OUI	NON	NON	NON			NON	Père DT II		0,22			
4	BASSE	39	NON	OUI	NON	NON	NON			NON			0,15			
5	BASSE	33	NON	OUI	NON	NON	OUI	GOITRE	LEVOTHYROX	NON			0,15	0,008		
6	BASSE	40	NON	NON	NON	NON	NON			NON			0,15			
7	BASSE	39	NON	OUI	NON	NON	NON			NON			0,42	0	0,22	
8	DYSTOCIQUE	35	non	OUI	NON	NON	NON			NON			0,48	0		
9	DYSTOCIQUE	37	NON	NON	NON	NON	NON			NON			0,15	0,43	0,15	
10	HAUTE	41	NON	OUI	NON	NON	NON			NON			0,16		0,15	
11	BASSE	39	NON	NON	NON	NON	OUI	02 ABRT		NON			0,15	0		
12	HAUTE	38	NON	OUI	NON	NON	OUI	DID • Hypothyroïdie	LEVOTHYROX • INSULINOTHERAP	NON			0,15	0,19	0,15	
13	HAUTE	39	NON	NON	OUI	Eclampsie • Pic tussif	OUI	HTA		NON			0,15			
14	HAUTE	38	NON	OUI	NON	NON	NON			NON			0,15	0,13		
15	BASSE	37	NON	OUI	NON	NON	NON			NON			0,15	0,1		
16	BASSE	37	NON	OUI	NON	NON	NON			NON			0,15	0	0,23	
17	BASSE	35	NON	OUI	NON	NON	OUI	Ulcère		NON			0,34			
18	HAUTE	37	NON	OUI	NON	NON	NON			NON			0,15	0		
19	HAUTE	36	NON	OUI	NON	NON	OUI	PAR	ARAVA • DIFROSTENE	NON			0,15	0		
20	BASSE	33	NON	NON	OUI	Inf E.coli veille de l'accouchement	NON			NON			0,15	insuf		
21	HAUTE	42	NON	OUI	NON	NON	NON			NON			0,15	0,15		
22	BASSE	37	NON	OUI	NON	NON	OUI	Hypothyroïdie		NON	03 ABRT		0,15	0,08		
23	HAUTE	41	NON	NON	OUI	Hypothyroïdie	NON		LEVOTHYROX	NON			0,15	0		
24	BASSE	38	NON	OUI	OUI	Diabète gestationnel	OUI	Hypothyroïdie	LEVOTHYROX	NON			0,15	0,04		
25	BASSE	37	OUI	OUI	NON	NON	NON			OUI	Consanguinité		0,15	0,13	0,15	
26	BASSE	37	NON	OUI	NON	NON	NON			NON			0,15	0		
27	HAUTE	39	NON	OUI	OUI	Proteinurie élevée	NON			NON			0,15	0		
28	BASSE	37	NON	OUI	NON	NON	NON			OUI	Avortement		0,15	0	0,24	
29	HAUTE	38	NON	OUI	OUI	Diabète gestationnel	OUI	Hypothyroïdie	INSULINE • LEVOTHYROX	NON			0,19			
30	BASSE	39	NON	OUI	OUI	Diabète gestationnel	NON			NON			0,29			
31	HAUTE	36	OUI	OUI	OUI	Diabète gestationnel	NON			NON			0,15			
32	HAUTE	37	NON	OUI	NON	NON	NON			NON			0,42	0		
33	BASSE	36	NON	OUI	NON	NON	NON			NON			0,15	0		
34	HAUTE	38	OUI	OUI	NON	NON	NON			NON			0,15	0,05	0,18	
35	HAUTE	38	NON	OUI	NON	NON	NON			NON			0,15	0		
36	HAUTE	38	NON	OUI	NON	NON	NON			NON			0,15	0		
37																
38																
39																

Feuil1 Feuil2 Feuil3

Modifier

60%

Calibri 11 A A

Coller Presse-p... Police

Renvoyer à la ligne automatiquement Fusionner et centrer

Standard

Nombre

Mise en forme conditionnelle Mettre sous forme de tableau Styles de cellules

Insérer Supprimer Format Cellules

Trier et filtrer Rechercher et sélectionner Édition

Avertissement de sécurité La mise à jour automatique des liens a été désactivée Options...

X39

	R	S	T	U	V	W	X	Y	Z	AA	AB	AC	AD	AE	AF	AG	AH	AI	AJ	AK	AL	AM
1	Pathologie associ	Identification de la p	Trt associé	ATCD	Identification de l'ATCD		COBAS1	ARCHITI	cobas2	architect	COBAS3	ARCHITI	cobas4	archi4	BT	BD	Bilirubin	Kaliémie	Créat	CI	Créat	
2	NON			NON			0,15	0							67	2	65	4,7				
3	NON			NON			0,15	0,17							72	2	70					
4	NON			NON	Père DT II		0,22								73	2	71		171,94	14,28		
5	NON			NON			0,15								118	8	111					
6	OUI	GOITRE	LEVOTHYROX	NON			0,15	0,008							76	3	73					
7	NON			NON			0,15								176	8	168					
8	NON			NON			0,42	0	0,22						143	6	137					
9	NON			NON			0,48	0							2	1	1	7,1				
10	NON			NON			0,15	0,43	0,15	0,06	0,15	0,01	0,32				6,7	31,3	5			
11	NON			NON			0,16		0,15	0												
12	NON			OUI	02 ABRT		0,15	0							60	2	58					
13	OUI	DID + Hypothyroïdie	LEVOTHYROX + INSULINOTHERAP	NON			0,15	0,19	0,15	0,03	0,43	0						3,2	35			
14	OUI	HTA		NON			0,15								16	4	12	5,5	2			
15	NON			NON			0,15	0,13														
16	NON			NON			0,15	0,1							32	6	86					
17	NON			NON			0,15	0	0,23	0					209	8	201					
18	OUI	Ulcère		NON			0,34								68	4	62					
19	NON			NON			0,15	0							134	4	130					
20	OUI	PAR	ARAVA + DIFROSTENE	NON			0,15	0										3,2				
21	NON			NON			0,15	insuf							54	2	52					
22	NON			NON			0,15	0,15							108	5	103					
23	OUI	Hypothyroïdie		OUI	03 ABRT		0,15	0,08							96	5	91					
24	NON		LEVOTHYROX	NON			0,15	0														
25	OUI	Hypothyroïdie	LEVOTHYROX	NON			0,15	0,04							62	2	60					
26	NON			OUI	Consanguinité		0,15	0,13	0,15	0,11					58	3	55					
27	NON			NON			0,15	0														
28	NON			NON			0,15	0														
29	NON			NON			0,15	0	0,24													
30	OUI	Hypothyroïdie	INSULINE + LEVOTHYROX	NON	Avortement		0,19								93	5	88		4,4			
31	NON			NON			0,29								104	6	98					
32	NON			NON			0,15								92							
33	NON			NON			0,42	0											5,1			
34	NON			NON			0,15	0							83	2	81					
35	NON			NON			0,15	0,05	0,18	0,15	0	0,26			129	5	124		4,1			
36	NON			NON			0,15	0							66	2	64					

Abstract

Les substances immuno-réactives analogues à la digoxine dite « D.L.I.S » constituent une interférence au dosage de la digoxinémie et représentent une contrainte non-négligeable, principalement en analyse immunochimique ; méthode couramment utilisée pour les analyses de routine, et plus encore compte-tenu de l'index thérapeutique étroit de la digoxine **[0.8-2] ng/ml**. En effet, la surveillance clinique nécessite une exactitude des résultats biologiques, particulièrement chez les patients à risque notamment les sujets âgés et les nouveau-nés. Pour cause, une sur-sous-estimation due à ces interférences serait susceptible d'aggraver leur état clinique. Par la présente étude, une mesure de la fréquence de détection des DLIS a été effectuée sur une population de **35 nouveau-nés**, admis au niveau du service de néonatalogie du C.H.U NEDDIR Med de Tizi-Ouzou pour motif d'hospitalisation aléatoire, **n'ayant pas été traités par la digoxine**. Sur l'ensemble de la série (**n=35**), Quatre (**4**) ont présenté des taux de DLIS relativement positifs, ce qui correspond à **11.43%** de la population étudiée. Ce travail n'a pas établi de lien concret entre la détection de DLIS chez ces patients, et les facteurs de risque décrits par la littérature (Prématurité, Insuffisance rénale et insuffisance hépatique, conditions d'hypervolémie...)

Mots clés : *Digoxin-Like Immunoreactive Substances*, interférence, analyse immunochimique, digoxinémie, facteur de risque.

Digoxin-Like Immunoreactive Substances known as "D.L.I.S." interfere with the determination of digoxinemia and represent a significant constraint, mainly in immunochemical analysis; a method commonly used for routine analyses, and even more so given the narrow therapeutic index of digoxin **[0.8-2] ng/ml**. Indeed, clinical surveillance requires accurate biological results, especially in at-risk patients, such as the elderly and newborns. For this reason, an under/over-estimation due to these interferences could worsen their clinical condition. By the present study, a measurement of the frequency of detection of DLIS was performed on a population of **35 newborns** admitted to the neonatology department of the C.H.U. NEDDIR Med in Tizi-Ouzou for random hospitalization, who were **not treated with digoxin**. Over the entire series (**n=35**), Four (**4**) had relatively positive DLIS rates, corresponding to **11.43%** of the study population. This work did not establish a concrete link between the detection of DLIS in these patients and the risk factors described in the literature. (Prematurity, renal failure, hepatic insufficiency, hypervolaemia situations...)

Keywords: Digoxin-Like Immunoreactive Substances, interference, immunochemical analysis, digoxinemia, risk factor.