



**Remerciements** Avant tout, nous remercions du plus profond de notre cœur, Dieu le tout puissant de nous avoir illuminé et ouvert les portes du savoir, et nous avoir donné le courage, la force, la volonté et les moyens afin de pouvoir accomplir ce travail. Nous tenons à remercier profondément tous ceux qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail et particulièrement: Notre promotrice M<sup>me</sup> BISSATI Samia non seulement pour avoir accepté de diriger ce travail, mais aussi pour sa orientation et sa patience. Notre co-promoteur M<sup>r</sup> OULD EL HADJ Mohamed Didi pour son aides, ses conseils et ses orientations. C'est avec un grand plaisir que nous adressons nos remerciements à M<sup>me</sup> SIBOUKEUR, O pour avoir accepté la présidence de ce jury et M<sup>elle</sup> KHELIL .R d'avoir accepté d'examiner ce travail. Nos remerciements chaleureux s'adressent aux médecines : TIDJANI A.C. et LOUCIF et à tout les personnes du laboratoire de l'hôpital, particulièrement M<sup>r</sup> DADAMOUSSA K,

**Résumé**L'objectif de cette étude est de mettre en évidence l'importance des analyses sanguines dans le diagnostic des certaines maladies pour déterminer le traitement convenable. D'autre part, cette étude montre l'intérêt du spectrophotomètre dans la détermination quantitative de certains éléments sanguins. Notre étude statistique qui a été réalisée sur 500 patients hospitalisés, a été montré que les facteurs tels que l'âge, l'état physiologique, les maladies...etc. influent sur la quantité de quelques constituants du sang, tels que le cholestérol, la créatinine et transaminases ... Cette perturbation n'indique pas la réelle maladie du patient mais elle aide à éclairer les praticiens sur certaines pathologies probables, et une meilleure connaissance des symptômes observés sur le malade. **Mots clés** : sang, cholestérol, créatinine, transaminases, spectrophotomètre.

**Summary** Aim the study deals with the importance of blood analysis in the diagnosis of some illnesses to find out the adequate treatment. It explains the interest of spectrophotometer in the determination of each blood constituent quantity to know the causes of maladies. Statistic analysis has been realized on 500 hospitalized patients. It has been found that the factors age, sex, physiology state, illnesses...etc. influences on the quantity of some blood constituents that cholesterol, créatinine, transaminases. This perturbation does not indicate the real illness of patient but it helps to highlights on some probable maladies. By knowledge of observably symptoms on the patient, we can precise his illness. **Words kais:** blood, cholesterol, créatinine, transaminases, spectrophotometer.

هذه الدراسة هو معرفة أهمية التحاليل الدموية في تشخيص بعض الأمراض من **ملخص** إن الهدف من

اجل تحديد العلاج المناسب.

من جهة أخرى تبين هذه الدراسة أهمية السباكتروفوتومتر في

التحديد الكمي لبعض عناصر الدم.

طبقت دراستنا الإحصائية على 500 مريض بالمستشفى، كما بينت أن العوامل كالسن،

الجنس، الحالة الفيزيولوجية والأمراض... الخ. تؤثر على كمية بعض مكونات الدم كالكولسترول،

كرياتينين و ترنزاميناز. هذا الاضطراب لا يدل على

المرض الحقيقي للمريض لكن يساعد في تسليط الضوء على مجموعة من الأمراض المحتملة،

وبمعرفة الأعراض الملاحظة على المريض نستطيع تحديد مرضه بدقة. **الكلمات الدالة:** الدم،

كولسترول، كرياتينين، ترنزاميناز، سباكتروفوتومتر.

## Liste des abréviations

Abréviation	Signification
4-AAP	Amino-4-antipurine
AC	Acide
ALAT	Alanine aminotransférase
ANS	Absorbance non spécifique
AOTF	Acoustico-optique tunable filter
ASAT	Aspartate aminotransférase
DO	Densité optique
EDTA	Ethylène diamine tetra-acetate
FNS	Formule- Numération sanguine
FSH	Follicule stimulating hormone
G.O.T	Transaminase glutamo-oxaloacétique
G.P.T	Transaminase glutamo-pyruvique
HbA1	Homoglobine glycosylée
HDL	Heavy density lipoprotein
HIV	Hépatites Infectieuses Virales
IgE	Immunoglobulines de type E
LDH	Lactate deshydrogénase
LDL	Low density lipoprotein
LED	Light emitting diode
LH	Luteinizing hormone
MDH	Malate déshydrogénase
NAD	Nicotinamide Adénine Dinucleotide
R	Réactif
TP	Temps de prothrombine
U / l	Unité Frankel par litre
UV	Ultra-violet
V/L	Volume par litre
VLDL	Very low density lipoprotein
VS	Vitesse de sédimentation
$\epsilon$	Coefficient spécifique de la substance en mol par litre dans le solvant
Q	Energie de la lumière émergente
Q0	Energie de la lumière incidente

## Liste des tableaux

N°	Titre	Page
<b>01</b>	Caractéristiques des tubes Beckman	05
<b>02</b>	Valeurs normales du cholestérol total dans le sang ( <b>DOROSZ, 2002</b> )	11
<b>03</b>	Composition des tubes blancs, standard et dosage ( <b>ELITECH, 2005</b> )	12
<b>04</b>	Maladies causées l'augmentation ou la diminution de cholestéroleme	12
<b>05</b>	Valeurs normales de créatinine dans le sang ( <b>DOROSZ, 2002</b> )	14
<b>06</b>	Préparation de standard et l'échantillon pour le dosage de créatinine ( <b>BIOMAGHREB, 2005</b> )	15
<b>07</b>	Les causes de l'augmentation et la diminution de la créatinine dans le sang	16
<b>08</b>	Valeurs normales de l'ASAT (TGO) dans le sang ( <b>DOROSZ ,2002</b> )	19
<b>09</b>	Valeurs normales de l'ALAT (TGP) dans le sang ( <b>DOROSZ ,2002</b> )	19
<b>10</b>	Préparation de l'échantillon pour doser TGO et TGP (mono réactif) ( <b>ELITECH ,2004</b> )	19
<b>11</b>	Préparation de l'échantillon pour doser TGO et TGP (biréactifs) ( <b>ELITECH, 2004</b> )	20
<b>12</b>	Les domaines d'applications des différents spectrophotomètres	31
<b>13</b>	Répartition des échantillons selon les différents services	40
<b>14</b>	Répartition des échantillons de médecine interne selon le sexe	41
<b>15</b>	Répartition des patients selon le sexe et les mois	42
<b>16</b>	Variation de la cholestérolémie des patients selon le sexe et la période	43
<b>17</b>	Répartition des patients selon le sexe et les mois	45
<b>18</b>	Variation de la créatininémie des patients selon le sexe et la période	45
<b>19</b>	Répartition des patients selon le sexe	47
<b>20</b>	Variation des TGO selon le sexe et la période	48
<b>21</b>	Variation des TGP chez les patients selon le sexe et période	49

## Liste des figures

N°	Titres	Page
01	Structure du cholestérol ( <b>KRUH, 1971</b> )	09
02	Structure la créatinine ( <b>BOULANGER et al ., 1977</b> )	13
03	Structure de phosphate de pyridoxal ( <b>BOULANGER et al.,1977</b> )	18
04	Différentes régions spectrales ( <b>BERTRAND et al., 2000</b> )	25
05	Classification des spectrophotomètres selon leur principe de fonctionnement ( <b>BERTRAND et al., 2000</b> )	30
06	Répartition des échantillons selon les différents services	41
07	Répartition des échantillons selon le sexe (médecine interne)	42
08	Répartition des patients selon le sexe (cholestérol)	43
09	Variation de la cholestérolémie des patients selon le sexe et la période	44
10	Répartition des patients selon le sexe (créatinine)	45
11	Variation de la créatininémie des patients selon le sexe et la période	46
12	Répartition des patients selon le sexe (T.G.O)	47
13	Variation des TGO selon le sexe et la période	48
14	Variation des TGP chez les patients selon le sexe et période	49
15	Seringue	Annexe II
16	Micropipette	Annexe II
17	Differentes cuves utilisées	Annexe II
18	Centrifugeuse (Jouan)	Annexe II
19	Bain marie (nüve bath)	Annexe II
20	Spectrophotomètre (Anadéo)	Annexe II

# Glossaire

**Atrophie musculaire** : Les principales

arthropathies sont les arthrites et l'arthrose.**Arthrites** : Sont des affections inflammatoires aiguës ou chroniques. Elles provoquent une douleur, un gonflement, une destruction ou d'une rougeur ou de plusieurs articulations.**Arthrose** : Est une maladie chronique d'origine mécanique qui provoque une destruction des cartilages et des surfaces osseuses sous-jacentes des articulations.**Cirrhose** : Maladie caractérisée par une réorganisation tissulaire et une altération cellulaire.**Clearance de la créatinine** : C'est la concentration de



créatinine dans les urines de 24 heures par rapport sa concentration plasmatique.

**Fluorimétrie** : Cette technique est beaucoup plus sensible que l'absorptiométrie moléculaire. Elle utilise également la fluorescence pour doser des substances de façon indirecte. **Goutte** : Maladie métabolique résultent d'un excès d'acide urique. Elle est le plus souvent liée à obésité ou des excès alimentaires. **Héparine** : Anticoagulant. **Hépatites infectieuses virales** : Inflammation du foie liée à une infection virale (VIH) **Hépatite viral aigue** : Ce sont les plus fréquents, les agents en sont essentiellement les virus A B et C mais parfois D et E (infection du foie). **Horton (maladie de)** : Inflammation d'une artère temporale, ou des deux artères temporales. Cette maladie relativement rare, touche les personnes âgées et plus souvent les femmes. Elle peut être atteinte d'autres artères. Sa cause est inconnue ; toute fois la maladie est souvent associée à un pseudo polyarthrite rhizomélisque (atteinte inflammatoire des épaules et des hanches). **Hyperthyroïdie** : Affection caractérisé par un excès d'hormones thyroïdiennes et leurs précurseurs dans le sang, complètes par des examens variables selon la cause suspectée (dosage des anticorps). **Insuffisance hépatocellulaire sévère** : Biologiques due à une diminution des comportements des troubles de la conscience pouvant aller jusqu'au coma et syndrome hémorragique. Ensemble des manifestations cliniques et importantes de la masse des cellules. **Insuffisance rénale** : Réduction de la capacité des reins à assurer la filtration et l'élimination des produits de déchet du sang, à contrôler l'équilibre du corps en eau et en sels régularisé pression sanguine. **Lupus** : Forme des lésions cutanées rouges comportant des croûtes qui ne provoquent pas de démangeaisons. **Myopathie** : Toute affection des fibres musculaires **Néphrose** : Maladie atteignant les glomérules du rein et se traduisant par un syndrome néphrotique. Il peut survenir à tout âge, mais est surtout fréquent chez l'enfant, chez lequel elle constitue la première cause de syndrome néphrotique le taux de lipides (cholestérol et triglycérides) dans le sang augmente, alors que la piopsie rénale ne révèle pas de lésions significatives. **Obésité** : Est un excès des graisses stocke dans les cellules du tissu adipeux. **Pancréatite aigues** : C'est une inflammation aigue du pancréas, qui correspond à œdème et /ou à une nécrose d'intensité et de gravité variables. **Prématuré** : Les principales causes en sont l'alcoolisme et la migration de calculs biliaires. **Quartz** : Silice cristallisée. **Stéatose α** : Accumulation de graisse à l'intérieur des cellules qui, à l'état normal, n'en contiennent que de très faibles traces. **Tampon pipes** : Est des tampons les plus couramment employés en biochimie. C'est l'acide pipérazine -1,4-bis (éthane-2-sulfonique). **Tampon tris** : Sa formule chimique est  $\text{NH}_2\text{C}(\text{CH}_2\text{OH})_3$  (trihydroxyméthyl aminométhane). **Tungstène** : Métal assez

lourd, de couleur noirâtre, utilisé pour filaments des Lampes. **Unité de Fränkel** : Est la quantité d'enzyme qui donne une augmentation de la densité optique de 0.001 par minute et par ml de sérum à 340 nm. **Xénon** : Est un élément chimique de symbole Xe et de numéro atomique 54, est un gaz rare, inodore et incolore.

# *Sommaire* Introduction

## 01 Chapitre I: Prélèvement et méthodes d'analyses quantitatives

### sanguines 1- Généralités

#### 032- Définition du sang

#### 033- Différents éléments du sang

#### 034- Fonctions du sang

#### 045- Prélèvement sanguin

#### 04 5.1- Equipement et environnement

#### 04 5.2- Matériels utilisés

#### 04 5.2.1- Matériels à usage unique

#### 04 5.2.2- Autres matériels

#### 06 5.3. Méthodes de prélèvements

#### 06 5.3.1. Points de ponction

#### 065.3.1.1. Prélèvement de sang veineux

#### 065.3.1.2. Prélèvement de sang capillaire

#### 06 5.4. Facteurs responsables de modifications des

résultats

#### 075.4.1. Au moment du prélèvement

#### 075.4.2- Dans les jours qui précèdent le prélèvement

#### 07 5.5- Quelques conseils pour le prélèvement

#### 076. Principales analyses sanguines

#### 086.1. Nature des examens demandés

biomédicales

#### 087. Diverses méthodes d'analyses quantitatives

#### 087.1. Méthodes colorimétriques

#### 087.1.1. Cholestérolémie

#### 097.2. Méthode cinétique colorimétrique

#### 137.2.1. Créatininémie

137.3. Méthodes cinétiques

167.3.1. Transaminases

16

## Chapitre II: Spectrophotomètre et analyses sanguines

	1- Définitions
	232- Principe
	233- Absorption
	244- Influence
des ions étrangers sur la coloration des solutions	245. Différents
types de spectrophotomètres	255.1.
Spectrophotomètre d'absorption atomique	255.1.1.
Eléments constitutifs	255.1.2. Classes
de spectrophotomètres d'absorption atomique	265.1.3.
Avantages de la méthode et interférences	275.2.
Spectrophotomètres d'absorption moléculaire (UV/Vis)	275.2.1.
Eléments constitutifs	275.2.2. Classes
de spectrophotomètres d'absorption moléculaire (UV/Visible)	285.3. Spectromètre
d'absorption infrarouge	295.3.1. Eléments
constatifs	295-3-2 Classification
des spectrophotomètres infrarouges	296- Application des différents
spectrophotomètres	317. Erreurs possibles dans
l'analyse quantitative	31

## Chapitre III : Matériels

### et méthodes Matériels

- 341- Matériels biologiques
  - 341.1-Population étudiée
  - 341.2- Prélèvement et préparation des échantillons
- 342. Appareillage
- 343- Réactifs
- 34II- Méthodes
  - 361- Mode opératoire
    - 361.1 Prélèvement
    - 361.2- Centrifugation
    - 361.3. Pipetage
    - 361.4. Incubation
    - 361.5 Lecture
  - 362- Dosage
    - 362.1. Dosage du cholestérol

362.2. Dosage de la créatinine

372.3. Dosage de la Transaminase Glutamo-Oxaloacétique (TGO)

**37 Chapitre IV : Résultats et discussions**1- Provenance

402- Sexe

413- Cholestérol

424- Créatinine

445-

Transaminases

475.1- Transaminase Glutamo-Oxaloacétique (T G O)

475.2. Transaminase Glutamo-pyruvique (T G P)

496- Observations personnelles

50Insuffisances techniques

50Insuffisances administratives

**50 Conclusion**

**52 Références bibliographique**

**54 Annexes**

56

# *Introduction*

**Introduction** Le sang est un liquide rouge et visqueux circulant dans les vaisseaux pour irriguer les tissus de l'organisme (**LEVALLOIS et al., 2003**). Il joue diverses fonctions telles que : les échanges gazeux, le transport des éléments nutritifs aux cellules et des déchets élaborés au cours du métabolisme cellulaire vers les frontières de sortie de l'organisme (**BOULANGER et al., 1968**). Les analyses biochimiques consistent à mesurer la quantité des constituants des liquides biologiques (sang, urine... etc.). Ces analyses médicales concourent au diagnostic, au traitement ou à la prévention des maladies humaines ou qui font apparaître toute autre modification de l'état physiologique (**GHNASSIA, 1998**). La majorité des maladies ont, en effet, des répercussions sur leur composition et leur étude peut aider au diagnostic et au suivi de nombreuses maladies (**Site :01**). A cet effet, dans la plupart des laboratoires biochimiques, les analyses quantitatives s'effectuent par méthode spectrophotométrique. Cette méthode permet de mesurer l'absorption d'une solution d'une longueur d'onde déterminée (**POLONOVSKI et al., 1973**). Etant donné l'importance de cette technique d'analyse biologique, nous nous sommes intéressées à l'étude de trois paramètres importants (cholestérol, créatinine et transaminases) particulièrement dans le domaine hématologique. Le présent travail se divise en 02 parties principales : La première consiste en une recherche bibliographique portant sur les analyses quantitatives sanguines, ainsi que l'appareillage (spectrophotomètre) ; La seconde partie concerne l'aspect pratique qui consiste en un compte rendu de stage effectué en milieu hospitalier.

*Chapitre I*  
*Prélèvement et méthodes*  
*d'analyses quantitatives*  
*sanguines*



**1- Généralités** Les cellules de notre organisme baignent dans un liquide qui remplit les espaces intercellulaires (système lacunaire). Ce liquide lacunaire ou liquide interstitiel, qui constitue le véritable milieu intérieur, est en relation étroite avec les systèmes vasculaires de l'organisme, dans lesquels circulent le sang et la lymphe. C'est du sang, et accessoirement de la lymphe, que le liquide lacunaire reçoit les aliments destinés aux cellules. C'est dans le sang et la lymphe qu'il rejette les produits de déchets de la vie cellulaire (**BOULANGER et al., 1968**). L'étude du sang permet donc de connaître les aliments et déchets cellulaires, d'étudier leurs variations, de suivre leurs modifications pathologiques (**BOULANGER et al., 1968**). Les manipulations biochimiques sont effectuées sur un matériel constitué soit par des prélèvements de liquides biologiques (essentiellement sang et urines, mais aussi liquide céphalorachidien, liquide articulaire, etc.), soit sur des fragments tissulaires (foie, cerveau, poumons, etc.) (**KAMOUN et al., 2002**).

**2- Définition du sang** Le sang est un tissu complexe en perpétuel renouvellement.

Il est formé de cellules variées et de divers éléments en suspension dans un liquide (**BEROUD et al., 2001**). Le sang est un liquide hétérogène constitué par des éléments figurés ou globules et une solution, le plasma (**GHNASSIA et al., 1998**).

**3- Différents éléments du sang** Si le sang se compose de plasma et de cellules en suspension, les examens biologiques sont réalisés: Sur du sang total: plasma et éléments figurés (globules

rouges, blancs et plaquettes); **Sur le plasma:** partie liquide du sang recueilli sur anticoagulant et obtenue après séparation des éléments figurés par centrifugation; **Sur du sérum:** obtenus après coagulation. Le sang est divisé en 4 groupes: **Electrolytes:**  $Ca^{++}$  qui permet le maintien de la pression osmotique et l'équilibre acido-basique. **Protéines:**

Albumine qui permet la viscosité du sang, rôle de tampon; maintien de la pression oncotique, du volume sanguin ... etc. Transport des divers éléments, anticorps, facteurs de la coagulation. **Substances azotées:** Urée, acide urique et créatinine qui sont des déchets du métabolisme. **Nutriments:** Glucose, lipides et cholestérol sont des substances métaboliques

(**BEROUD et al., 2001**).

**4- Fonctions du sang** C'est le transport des produits finaux du métabolisme jusqu'aux organes de l'excrétion (**KRUH, 1971**). Il assure les échanges gazeux ( $O_2$  et  $CO_2$ ) grâce au pigment respiratoire (hémoglobine) contenue dans les hématies. Il transporte les éléments nutritifs du système digestif aux cellules, et les hormones vers le lieu de leur fonction (**GHNASSIA, 1998**). Il régularise l'équilibre acido-basique dans le métabolisme de l'eau et des éléments minéraux (**BOULANGER et al., 1968**).

**5- Prélèvement sanguin** Les prélèvements sanguins effectués par le laborantin sont de deux sortes: veineux ou capillaires. Ce sont des actes réalisés sur prescription médicale,

permettant l'obtention d'un échantillon de sang dans le but d'effectuer des examens biologiques (KRUH, 1971).

**5.1- Equipement et environnement** Notions importantes qui devront être réunies pour assurer à la fois, le confort physique, le confort moral du patient ainsi que des conditions de travail optimum pour le préleveur. Pour assurer le confort normal du patient, le prélèvement devra se faire dans un local propre et bien rangé, équipé d'une isolation phonique et visuelle. Dans le respect des conditions d'hygiène et de sécurité, le local devra être muni d'un lavabo, d'un essuie mains et d'un savon doux liquide ou d'un savon antiseptique; en plus d'un chariot propre et désinfecté et d'une poubelle (BEROAU *et al.*, 2001).

**5.2- Matériel utilisé**

**5.2.1- Matériel à usage unique** Pour des raisons sécurité et d'hygiène, l'utilisation du matériel à usage unique est vivement recommandée malgré son coût. Ce matériel est conditionné et stérilisé à l'échelle industrielle (la stérilisation se faisant par rayonnement ionisant). Pour le prélèvement de sang veineux, l'on dispose de seringues, d'aiguilles de calibre différent et de seringues montées. Pour le prélèvement de sang capillaire, différents matériels sont utilisés en fonction de l'examen demandé (BEROAU *et al.*, 2001). Il faut utiliser des micro tubes en polyéthylène de contenance 400 à 500 µl qui peuvent être bouchés et placés dans des micro centrifugeuses à rotation très rapide (KAMOUN *et al.*, 1974). Ces microtubes ou tubes Beckman sont livrables avec leur anticoagulant (Tab.01).

**Tableau 01: caractéristiques des tubes Beckman**

Couleur de bouchon	anticoagulant	Examens réalisables
Violet	EDTA, sel de potassium	Numération- Formule (FNS), plaquette, réticulocytes, hémoglobine glycosylée (HbA <sub>1</sub> ) et électrophorèse de l'hémoglobine (FIACRE <i>et al.</i> , 2002).
Bleu	Citrate de sodium	Coagulation: TP, Fibrine, héparinémie, (FIACRE <i>et al.</i> , 2002), utilisé à la concentration de 5 mg/ml de sang (KAMOUN <i>et al.</i> , 1974).
Noir	Citrate de sodium	Vitesse de sédimentation (VS) (FIACRE <i>et al.</i> , 2002)
Vert	Héparine, sel de lithium	Chimie: Ionogramme (Na, K, Cl), magnésium. Dosage de Bêta- HCG. Gp, phénotype (FIACRE <i>et al.</i> , 2002). L'héparine ne modifie que le dosage de la phosphate acide (KAMOUN <i>et al.</i> , 1974).

<b>Gris</b>	Héparine, iodacétate	Glycémie, urée ( <b>KAMOUN et al., 1974</b> ).
<b>Rouge</b>	Sans anticoagulant "tube sec"	Chimie: acide urique, cholestérol, créatinine...Enzyme: transaminases (TGO, TGP), amylase ...Sérologie: hépatites (A.B.C), HIV (SIDA), parasites (Amibiase)...Hormones: FSH, LH ...Marqueurs tumoraux: ACE, AFP, CA15-3, CA125, CA19-9, PSA...Médicaments: lithium, théophylline...Allergologie: IgE totales et spécifiques...

**5.2.2- Autres matériels** Des gants stériles ou non, à usage unique; Des compresses non stériles ou stériles; Un garrot et des protections à usage unique (**BEROAUD et al., 2001**). Le stockage se fait dans des armoires propres et accessibles. Il ne faut pas stocker de trop grandes quantités de matériels à usage unique ayant une date de péremption trop proche (**BEROAUD et al., 2001**).

**5.3. Méthodes de prélèvements**

**5.3.1. Points de ponction**

**5.3.1.1. Prélèvement de sang veineux** Différents sites sont possibles: Au niveau du pli du coude de chaque bras: Veine médiane; Veine basilique; Veine céphalique; Au niveau des avant-bras, bras: veine céphalique ; Au niveau du dos de chacune des mains: arcade de la main ; Au niveau de la fontanelle chez les nourrissons. Pour le sang veineux, des tubes à centrifuger en plastique sont couramment utilisés, (**KAMOUN et al., 1974 et BEROAUD et al., 2001**).

**5.3.1.2. Prélèvement de sang capillaire** Ce prélèvement s'effectue au niveau: Du bord externe des doigts de la main; Du talon du nourrisson; Du lobe de l'oreille (utilisé pour la mesure du temps de saignement) (**BEROAUD et al., 2001**). Pour le sang capillaire, il faut utiliser des micro tubes en polyéthylène de contenance 400 à 500 µl qui peuvent être bouchés et placés dans des microcentrifugeuse à relation très rapide. Ces micro tubes ou tubes Beckman sont livrables avec leur anticoagulants (héparine ou mélange oxalate fluorure) (**KAMOUN et al., 1974**).

**5.4. Facteurs responsables de modifications des résultats**

**5.4.1. Au moment du prélèvement** Garrot: la pose et le maintien d'un garrot n'ont pratiquement pas d'influence si la durée est inférieure à 1 minute. Position du patient: il influe sur la concentration des constituants sanguins car la pression de filtration augmente dans les extrémités inférieures lorsque le sujet passe de la position allongée à la position verticale. A jeûn: l'organisme réagit toujours après ingestion d'aliments solides et/ou liquides. Grossesse: la production hormonale influence sur la concentration des

hormones circulantes et des substances du métabolisme (GHNASSIA *et al.*, 1998).5.4.2-

**Dans les jours qui précèdent le prélèvement** Régime: les variations que l'on met en évidence sont liées à la composition des aliments ingérés, à leur association, tout autant qu'à leur quantité. **Tabagisme chronique:** l'importance des modifications induites dépend de la quantité de tabac consommé de nature (cigarettes, pipe) et de la technique d'imprégnation (avec sans inhalation). **Traitement:** certains médicaments influencent sur les résultats des analyses biologiques. **Exercice physique:** une activité réalisée avant l'examen, peut être à l'origine de modification des résultats (GHNASSIA *et al.*, 1998).5.5-

**Quelques conseils pour le prélèvement** Pour éviter les risques de contamination, il faut remplir les tubes par cet ordre Tubes secs ou sans additif ; Tubes citrates ; Tubes avec additifs (EDTA, thrombine et Fluorure). Laver les mains (lavage simple ou antiseptique) ; Faire figurer la date, l'heure du prélèvement, le nom de préleveur ; vérifier si le patient est à jeûn ou non ; Faire figurer le nom, le prénom, la date de naissance, le sexe et le nom de service (BEROAUD *et al.*, 2001).6. Principales analyses sanguines6.1.

**Nature des examens demandés** Généralement les analyses sanguines sont réalisés pour doser les aliments, les déchets et les produits toxiques rejetés dans le sang. Ces analyses sont divisées en plusieurs types tels que : Bactériologiques

Microbiologie: recherche d'un germe pathogène par examen direct et/ou culture ; Parasitologiques - mycologiques ; Immunologiques: recherche d'anticorps spécifiques ou marqueurs immunologiques ; Hématologiques: numération et étude cytologiques des éléments figurés du sang, analyse de la coagulation sanguine ; Dosage des médicaments ; Biochimiques: dosage d'une ou plusieurs molécules

(BEROAUD *et al.*, 2001). 7. Diverses méthodes d'analyses quantitatives

**biomédicales** Le but des analyses quantitatives est de déterminer les compositions des divers éléments ou combinaisons qui entrent dans la composition du corps à étudier (ALEXEE, 1966). Un très grand nombre de réactions biochimiques peuvent être suivies par l'apparition ou la disparition d'un constituant coloré. On peut même souvent suivre l'évolution d'un composé non coloré par spectrophotomètre lorsqu'il possède une bande d'absorption caractéristique dans l'ultra-violet et dans l'infrarouge (POLPONOVSKI *et al.*, 1973). Parmi les constituants du sang, il existe trois méthodes d'analyses quantitatives

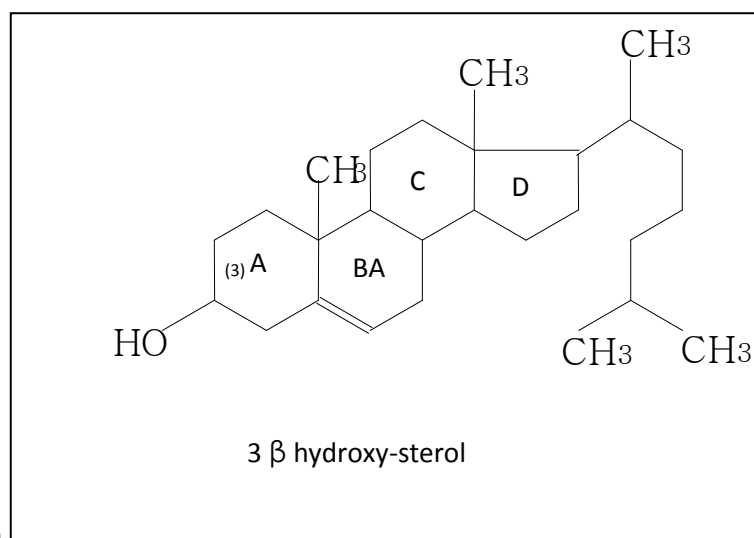
biochimiques telles que: Méthodes colorimétriques ; Méthodes cinétiques colorimétriques ; Méthodes cinétiques.7.1. Méthodes colorimétriques Certains dosages ioniques mettent en jeu des réactions donnant des produits colorés analysables par spectrophotométrie d'absorption moléculaire. Il s'agit généralement des réactions de

complexation, le complexe formé présentant un pic d'absorption (BERAUD *et al.*, 2001).

**7.1.1. Cholestérolémie**

**7.1.1.1. Définition** La Cholestérolémie est le taux de cholestérol dans le sang. Le cholestérol est le principal stéroïde animal (site : 01). Il fut découvert en 1770 par POULLETIER de la SALLE, qui l'isola des calculs biliaires, il est présent dans tous les tissus animaux (ANONYME, 1999). Le cholestérol existe sous forme libre ou estérifié dans la plupart des tissus et dans le sang où il est lié aux lipoprotéines (chylomicrons, VLDL, LDL et HDL) (DOROSZ, 2002). 90% du «cholestérol total» sont constitués par le cholestérol et ses esters. Le reste est formé de dérivés stéroliques ou d'autres stérols (cholestanol...). Le dosage le plus fréquemment demandé est celui du cholestérol sérique (BOULANGER *et al.*, 1968). Il possède multiples fonctions : Rôle dans le transport des graisses hépatiques et sanguines ; Rôle structural dans l'architecture cellulaire ; Rôle métabolique capital en tant que précurseur des acides biliaires et des hormones stéroïdes (hormones sexuelles males et femelles, hormone corticosurrénales) (ANONYME, 1999).

**Structure** Le cholestérol est un composé polycyclique (Fig. 01). Il dérive du cyclopentanoperhydrophenanthréne (noyau stérane) (KRUH, 1971 et



MOUSSARD, 2002).

Figure

**01 : Structure du cholestérol (KRUH, 1971).**

**7.1.1.2. But de dosage** Le dosage du cholestérol total permet de dépister les hypercholestérolémies isolées ou associées à une hypertriglycémie (ELITECH, 2005). La mauvaise réputation du cholestérol est due à la corrélation observée entre un haut niveau de cholestérol plasmatique et un risque élevé de troubles cardiovasculaires (LEFVRE et BINET, 1996).

**7.1.1.3. Diverses méthodes de dosage** De très nombreuses méthodes ou variantes de dosage du cholestérol ont été proposées. Elles reposent sur deux principes généraux différents : soit une réaction colorimétrique caractéristique du cholestérol et des cholestérides, soit une précipitation du cholestérol libre sous la forme d'un complexe insoluble avec le digitonose (digitonine)



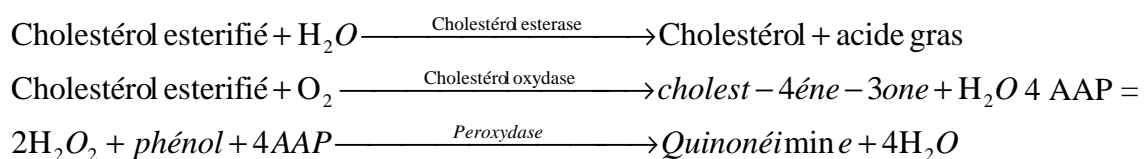
(BOULANGER *et al.*, 1968). Les stérols traités par certains réactifs développent diverses couleurs. L'addition d'une solution chloroformique de stérol, l'acide sulfurique conduit l'apparition de deux phases colorées. Une couche rouge (chloroformique) et une autre rouge brun (sulfurique) à fluorescence verte avec le cholestérol (ANONYME, 1999).

**7.1.1.3. La réaction de Libermann :** C'est la méthode pratiquée dans de nombreux laboratoires et considérée comme méthodes de références. Cette méthode est réalisée avec une solution chloroformique de cholestérol en présence d'anhydrique acétique et acide sulfurique. Le cholestérol donne successivement une coloration rose fugace, puis violette, bleu, émeraude et enfin verte, stable pendant quelques minutes (ANONYME, 1961). Ceci oblige à effectuer la réaction dans ces conditions strictement déterminées qui tenant ....du

fait que : La concentration en acide sulfurique influence la vitesse et l'intensité de la coloration ; La température de réaction : plus la température est élevée, plus la coloration est instable ; La présence des traces d'eau inhibe le développement de la coloration ; Les esters fournissent une coloration plus intense par rapport au cholestérol non estérifié (METAIS *et al.*, 1979).

**Méthode de précipitation avec le digitonoside :** Le digitonoside précipite en effet quantitativement est spécifiquement les 3  $\beta$  hydroxy-stérols dont le cholestérol libre représente la quasi-totalité dans le sérum (ANONYME, 1961). Il existe d'autres méthodes pour déterminer le cholestérol comme la méthode de séparation par la chromatographie, méthodes enzymatiques...etc. **Principe** Plusieurs enzymes de microorganismes sont capables de dégrader le cholestérol et peuvent servir à son dosage (METAIS *et al.*, 1979). La détermination enzymatique du cholestérol total suivant les

réactions :



Amino-4-antipyrine (ELITECH, 2005). **Technique** Le prélèvement sanguin s'effectue par une ponction veineuse. Le patient doit être à jeûn depuis 12 heures, et éviter de fumer avant l'examen (Site : 01). **Valeurs normales** Le tableau 2 indique les taux normaux du cholestérol total chez les individus humains. **Tableau 02 :** valeurs normales du cholestérol total dans le sang (DOROSZ, 2002).

Paramètre	Cholestérol total	
Homme	1.6-2.7 g/l	4.1-6.9 m mol/l
Femme	1.6-2.6 g/l	4.1-6.8 m mol/l

Nouveau né	1.6 -2.2 g/l	4.1-5.6 m mol/l
------------	--------------	-----------------

**Mode opératoire** Pipeter dans des tubes à essais le blanc, le standard (étalon) et l'échantillon (dosage) (**Tab 03**), puis laisser les tubes incubés pendant 325 secondes. Enfin lire l'absorbance de trois tubes, en spectrophotomètre en longueur d'onde 500 nm.

(**ELITECH, 2005**). **Réactif R** Tampon pipes, pH 6.7 ;Phénol ;Chlore de sodium ;Amino-4-antipyrine ;Cholestérol estérase ;Cholestérol oxydase;Peroxydase.**Standard:** Cholestérol.**Tableau 03 :** Composition des tubes blanc, standard et dosage (**ELITECH, 2005**)

	blanc	Standard	dosage
Réactif de travail	300µL	300µL	300µL
Eau distillée	3µL	-	-
Standard	-	3µL	-
Echantillon	-	-	3µL

La coloration finale est stable au moins 1

heure.**Calcul**

$$\frac{D_0 \text{ dosage}}{D_0 \text{ standard}} \times n$$

n : concentration du standard

D<sub>0</sub> : densité optique

**Linéarité** La méthode est linéaire pour des concentrations de cholestérol jusqu'à 19.3 mmol/l (750mg/dl). Au dessus de cette valeur diluer les échantillons 1/3 avec du NaCl à 0.9%. Et multiplier les résultats par 3 (**ROAD et al., 1997**).**Variations**

**physiologiques****L'âge:** augmentation avec l'âge.**Le sexe:** valeurs plus élevées chez la femme.**Activité physique:** augmentation des taux du HDL (**ALAIN et al., 2002**).**Variations pathologiques**La cholestérolémie augmente ou diminue au cours de ces maladies (**Tab. 04**).**Tableau 04 :** Maladies causées l'augmentation ou la diminution de cholestérol

L'augmentation du taux de cholestérol	La diminution du taux de cholestérol
Pancréatites aiguës ;	Insuffisance hépatocellulaire sévère
Les maladies hépatiques ;	( <b>HAKAWATI et al., 1992</b> ) ;
La goutte ( <b>HAKAWATI et al., 1992</b> ) ;	Mal nutrition ;
Hyperthyroïdie	Cirrhose ( <b>DOROSZ, 2002</b> ).
Néphrose ( <b>DOROSZ, 2002</b> ).	

**7.2. Méthode cinétique colorimétrique** C'est une méthode basée sur la réaction de Jaffé où la créatinine donne avec l'acide picrique, en milieu alcalin, une coloration rouge-orangée ; et également d'utilisée pour le sérum une méthode enzymatique concernant différents enzymes (Créatine Kinase, pyruvate Kinase,...etc.). **7.2.1.**

**Créatininémie Définition** La créatinine peut être définie comme un produit de dégradation azoté (ROAD et al., 1997). Elle est une substance provenant du métabolisme musculaire.

C'est la forme d'élimination de la créatine (dont elle dérive par déshydratation) et de phosphocréatine (KAMOUM et al., 2002). Elle est éliminée par les urines après filtration glomérulaire et sécrétion tubulaire mineure (METAIS, 1979). **structure** La créatinine est un constituant azoté non protéique (Fig.02), sa structure est la suivante :

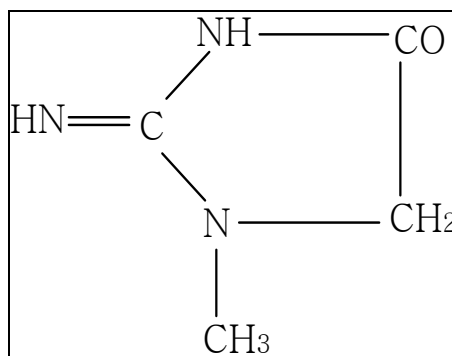


Figure 02: Structure du créatinine (BOULANGER

et al., 1977). **But de dosage** Le dosage de la créatinine est essentiellement exploité pour

l'évaluation de la fonction rénale (ROAD et al., 1997). **Diverses méthodes de**

**dosages** Généralement, toutes les méthodes de dosage de la créatinine reposent sur

l'utilisation de réaction de Jaffé. Ces méthodes sont : **Méthode directe**: le dosage repose sur l'utilisation de la réaction de Jaffé. Il peut se faire à partir du sérum après élimination des protéines par l'acide trichloracétique et sur les urines diluées. A ces méthodes, la lecture se fait à 510 – 530nm, ce qui ne représente pas l'optimum d'absorption du complexe à doser. La réaction est très sensible à la température, aussi bien pour le blanc que pour les dosages ; il faut donc veiller à ce que, dans le spectrophotomètre, la cuve contenant le blanc ne soit pas trop échauffée est un étalonnage doit être fait pour chaque série de mesures. Malgré ces inconvénients, la méthode reste encore largement utilisée.

**Méthodes avec purification** : pour améliorer la spécificité de la réaction de Jaffé, on s'est efforcé de séparer la créatinine des substances interférentes. Les résines échangeuses d'ions fixent la créatinine du sérum qui est ensuite éluée par un tampon phosphate et dosée par la réaction du Jaffé ou par spectrophotométrie dans l'UV à 235 nm (METAIS, 1979). **Méthodes utilisant les propriétés différentielles des corps réagissant dans la réaction de Jaffé** : un certain nombre de techniques évitent l'étape de purification mais



utilisent la réactivité différente du picrate de créatinine par rapport aux substance interférentes (METAIS, 1979). **Méthodes cinétiques** : Tous les composés qui réagissent dans la réaction de Jaffé ne le font pas à la même vitesse. L'acétoacétate réagit plus rapidement mais les autres composés réagissent plus lentement que la créatinine. De lectures peuvent être faites après une à deux minutes (METAIS, 1979). **Principe** La créatinine forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide picrique. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine

(BIOMAGHREB, 2005). **Technique** Le prélèvement s'effectue de 1 ml de sang dans un tube sec ou tube héparine. Il faut que le patient soit au repos (LABESCAT, 2003).

Si l'on veut déterminer la clairance de la créatinine endogène, il est indispensable de maintenir le sujet à jeun carné 24 heures avant l'épreuve (ANONYME, 1961). **Valeurs normales**

Le tableau 05 annonce les valeurs de références de la créatinine dans l'organisme. **Tableau 05 : Valeurs normales de créatinine dans le sang (DOROSZ, 2002)**

	Valeurs usuelles	
Homme	60 à 120 µ mol/l	6.8 à 13.6 m mol/l
Femme	50 à 120 µ mol/l	5.6 à 13.6 m mol/l
Nouveau né	60 à 90 µ mol/l	6.8 à 10.2 m mol/l

**Mode opératoire** Pipeter dans des tubes à essais le blanc, le standard et l'échantillon (Tab.

06), on lit la densité optique après l'incubation des tubes pendant 30 secondes, puis la relire après la deuxième 30 secondes (BIOMAGHREB, 2005). **Réactif R** : hydroxyde de sodium. Acide picrique. **Standard** : créatinine. **Tableau 06 : préparation de standard et l'échantillon pour le dosage de créatinine (BIOMAGHREB, 2005).**

	Standard	dosage
Standard	100 µL	-
Echantillon	-	100 µL
Réactif de travail	1 ml	1 ml

$$\text{Calcul créatinine} = \frac{\Delta DO_{\text{échantillon}}}{\Delta DO_{\text{standard}}} \times n \quad n : 20 \text{ (mg/l) Linéarité}$$

La méthode est linéaire jusqu'à 150 mg/l (15 mg/l, 132.6 µ mol/l). Si la concentration en créatinine est supérieure à 150 mg/l diluer l'échantillon au 1/2 avec une solution de NaCl à 9 g/l et recommencer le test. Multiplier le résultat par 2 (BIOMAGHREB, 2005).

**Variation physiologique:** La créatininémie diminue au cours de la grossesse et augmente

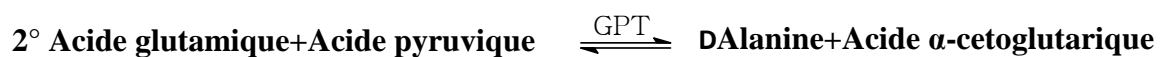
lors d'une consommation importante de viandes, une rhabdomyolyse (lyse musculaire) au après un effort (LABESCAT, 2003). Certains médicaments affectent la créatininémie :

Les contraceptifs oraux l'augmentent ; Las antiépileptiques la diminuent (DOROSZ, 2002). **Variations pathologiques** Le tableau 07 indique les causes de l'augmentation et la diminution de la créatininémie. **Tableau 07 : Causes de l'augmentation et la diminution de la créatinine dans le sang**

Créatininémie augmentée	Créatininémie diminuée
<ul style="list-style-type: none"> <li>Insuffisance rénale (KAMOUN et al., 2002) ; Prématurés ; Pré-éclampsie (ANONYME, 1961).</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Myopathie Les atrophies musculaires (LABESCAT, 2003).</li> </ul>

**7.3. Méthodes cinétiques** La cinétique chimique permet d'étudier la vitesse de réaction celles-ci sont catalysées par des enzymes. N ALAT érons donc la vitesse de réaction comme étant la mesure de la quantité et l'activité d'un enzyme, elle peut être déterminée par la quantité de substance transformée par unité de temps (KARLSON, 1971).

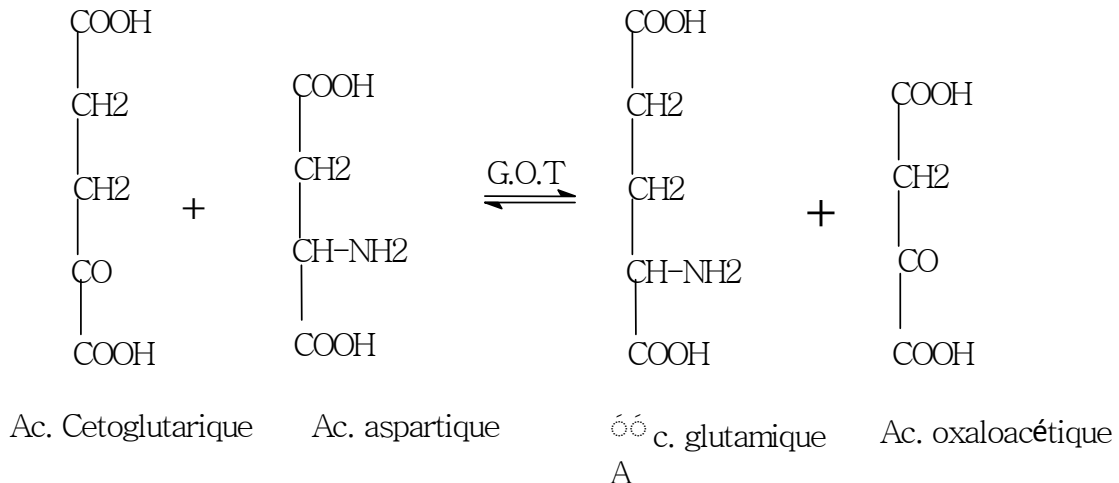
**7.3.1. Transamination Définition** Ce terme désigne le transfert réversible du groupement amine d'un amino-acide à un  $\alpha$ -céto-acide. Il n'y a pas libération de  $\text{NH}_3$  (WEIL, 2001). Elle a été découverte par Braunstein et Kritzman en 1937 (KRUH, 1971). Cette réaction présente un double intérêt métabolique: Elle permet la synthèse d'acides aminés à partir de l'acide  $\alpha$ -cétonique correspondant ; Elle initie le catabolisme des acides aminés (MOUSSARD, 2002). Les principales transaminases sont : l'aspartate aminotransferase (ASAT) ou transaminase glutamo-oxaloacétique (GOT), et l'alanine aminotransferase (ALAT) ou transaminase glutamo-pyruvique (GPT) (DOROSZ, 2002). ces deux réactions de transamination peuvent être explorées dans le sérum sanguin :



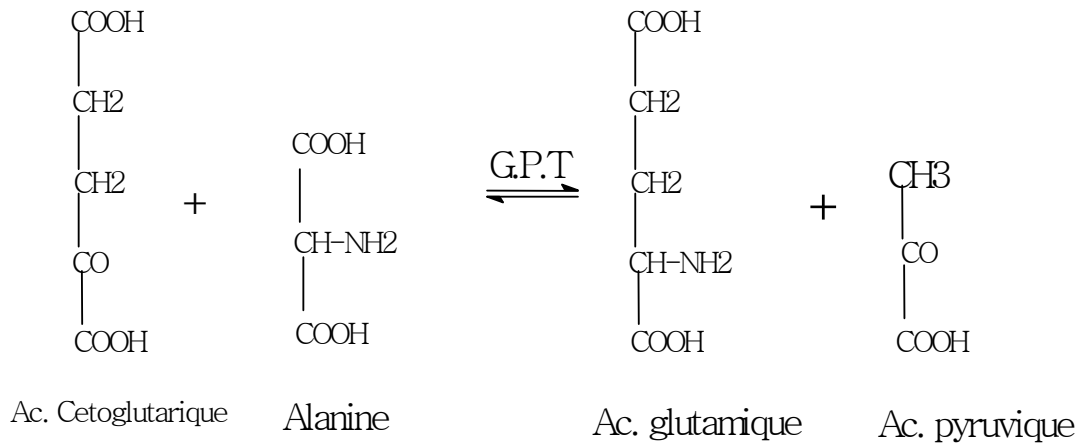
(BOULANGER et al., 1968).

**réactions catalysées par les transaminases** Parmi toutes les transaminases qu'ils sont des enzymes assurant les réactions de transamination de l'organisme, celles qui sont le plus souvent dosées en biochimie clinique actuelle sont : La glutamique-oxaloacétique-transaminase ou G.O.T qui catalyse la réaction

suivante :



La glutamique-pyruvique transaminase ou G.P.T qui catalyse la réaction suivante :



(ANONYME, 1961) **Structure** Les transaminases sont des enzymes qui travaillent avec un coenzyme important, qui est le phosphate de pyridoxal, de structure suivante :

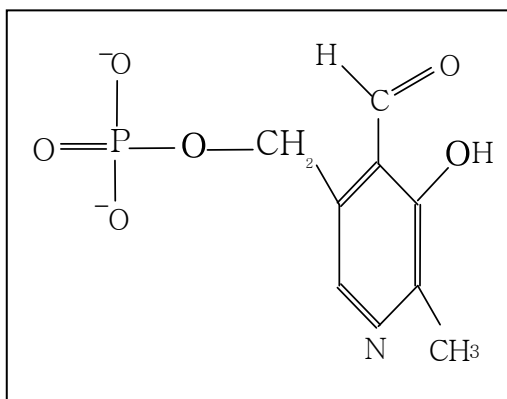
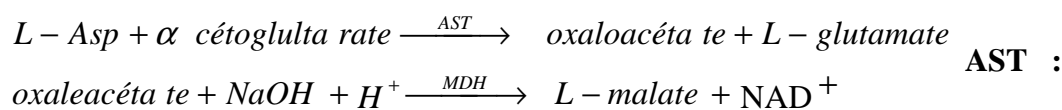


Figure 03 : Structure de phosphate de pyridoxal

(BOULANGER *et al.*, 1977) **But de dosage** Les transaminases sont des enzymes de nature glycoprotéique, localisés principalement au niveau du cytoplasme cellulaire, leur élévation est un reflet d'une lésion cellulaire essentiellement au niveau hépatique, cardiaque, rénal et musculaire (KAMOUN *et al.*, 2002). **Diverses méthodes de dosage** Méthode

**spectrophotométrique** : Elle étudie les variations de densité optique à 340 nm (BOULANGER et al., 1977). **Méthode des hydrazones** : Elle utilise surtout le mode opératoire de Rietman et Frankel, suivant les étapes ci-dessous : Laisser 1 ml de substrat G.P.T (ou G.O.T) pendant 10 minutes au bain marine à 37°C ;Ajouter au substrat 0.2 ml de sérum ;Laisser le tube incubé à 30 minutes pour G.P.T (une heure pour G.O.T) à 37°C ;Ajouter aussitôt 1 ml de réactif dinitrophenylhydrazine ;Attendre 20 minutes ;Ajouter 10 ml de NaOH (0.4 N) ;Lire après 5 minutes au photomètre à 505 μm (ANONYME, 1961). **Principe** Détermination de l'activation de l'aspartate aminotransférase



Aspartate amino transférase. **MDH** : malate déshydrogénase (ELITECH, 2004). **Technique** Le prélèvement sanguin s'effectue par une ponction veineuse. Le sérum est prélevé à jeûn en évitant toute hémolyse. **Valeurs normales** Les deux tableaux suivants indiquent les taux normaux des TGO et TGP successivement (**Tableau 08 et 09**). **Tableau 08** : Valeurs normales de l'ASAT (TGO) dans le sang (DOROSZ, 2002)

ASAT (TGO)	Valeurs à 30°C	Valeurs à 37°C
Homme Femme Nouveau né	5-30 μl 15-25 μl 20-70 μl	10-40 μl 110-35 μl 120-80 μl

**Tableau 09** : Valeurs normales de l'ALAT (TGP) dans le sang (DOROSZ, 2002)

ALAT(TGP)	Valeurs à 30°C	Valeurs à 37°C
Homme Femme Nouveau né	5-35 μl 15-30 μl 2-20 μl	10-45 μl 110-35 μl 15-35 μl

**Mode opératoire** Pipeter dans les tubes à essais le blanc, le standard (étalon) et l'échantillon (dosage), (Tab. 10), puis laisser ces tubes incubés 60 secondes, enfin lire l'absorbance de trois tubes en spectrophotomètre en longueur d'onde de 340nm à température 37°C (ELITECH, 2004). **Méthode mono réactif** **Tableau 10** : Préparation de l'échantillon pour doser TGO et TGP (mono réactif) (ELITECH, 2004)

Réactif de travail	200μl
Echantillon	20μl

Mélange après 1 minute d'incubation, mesure la variation de densité optique par minute ( $\Delta DO/min$ ) pendant 3 minutes.

**Méthode biréactifs** Tableau 11 : Préparation de l'échantillon pour doser TGO et TGP (biréactifs) (ELITECH, 2004)

R <sub>1</sub>	200μl
Echantillon	20μl
Mélange attendre 1 minute et ajouté	
R <sub>1</sub>	20μl

Mélange et après 1 minute d'incubation, mesure la variation de densité optique par minute ( $\Delta DO/min$ ) pendant 3 minutes.

**Calcul Mono réactif** Activité (μl) = DDOO/min x 1746  
**Biréactifs** Activité (μl) = DO/min x 1905 (ELITECH, 2004).

**Linéarité** La méthode est linéaire pour des concentrations des transaminases jusqu'à 440V/l. au dessus de cette valeur diluer les échantillons par des solutions salines (NaCl) 1/10, multiplier le résultat pour 10 (BIOCOM, 1980).

**Variations physiologiques** Médicaments entraînant une élévation des transaminases: anticonvulsivants (+ 15 %), contraceptiles oraux (+ 15 %).

**Grossesse:** diminution de 20 % des transaminases. **Surcharge pondérale:** élévation de 10 % (femme) à 50 % (homme) des valeurs normales. **Prise d'alcool:** Elévation de 10 à 40 % des taux.

**Déficit en vitamine B<sub>6</sub>:** Diminution de 20 % de TGP. **Variations**

**pathologiques** Augmentation à 10 fois les valeurs normales : Hépatites virales aiguës, avec ALAT > ASAT ; Obstruction de la voie biliaire. Augmentation à comprise entre 2 et 10 fois des valeurs normales: Hépatites infectieuses virales (varicelle-Zona, VIH) ; Atteint hépatique secondaire: Lupus, maladie de Horton... etc). Augmentation prolongée (> 6 mois): le rapport de l'ASAT/ALAT est supérieur à 2 dans 70 % des cas: Stéatose (alcoolisme, diabète) ; Obésité (augmentation surtout de l'ALAT) (KAMOUN et al., 2002).

*Chapitre II*  
*Spectrophotomètre et*  
*analyses sanguines*

Ce chapitre, est étudié la technique la plus courante des analyses quantitatives sanguines, précisément dans le domaine biochimique. Deux méthodes sont utilisées dans ces analyses, soit : spectrofluorimétrie ou spectrophotométrie, et cette dernière est la plus utilisable dans le domaine biomédicale. **1- Définitions** La spectrophotométrie est l'étude des interactions entre la matière et les radiations électromagnétique (AUDIGIE et al., 1995). Le spectrophotomètre est un appareil qui mesure en valeur relative en fonction de la longueur d'onde un flux d'énergie rayonnante. On peut considérer un spectrophotomètre comme un colorimètre photoélectrique à filtres perfectionnés qui aurait une bande passante variable et très sensiblement monochromatique (PRATS, 2002). **2- Principe** Lorsqu'un faisceau monochromatique pénètre dans un milieu matériel, solide, liquide ou gazeux, les molécules constituant ce milieu peuvent absorber une partie du rayonnement (WILLARD et al., 1995). La densité optique est de plus en plus utilisée car elle est directement proportionnelle à la concentration (KAMOUN et al., 1974). A partir de la loi de Beer-Lambert, la densité optique d'une solution d'une substance absorbante dans un solvant non absorbant est proportionnelle à l'épaisseur de solution traversée et à la concentration de la solution (WILLARD et al., 1995) **Annonce de la loi de Beer-Lambert** Lambert (1728-1777) a tout d'abord constate expérimentalement que  $\text{Log } \phi_t = K'l + Cte$ . C'est la loi de Lambert, puis Beer (1825-1963) montra que  $\text{Log } \phi_t = KC + Cte$  : c'est la loi Beer, on peut démontrer ces lois expérimentales, certains respectent la chronologie et parlent de la loi de Lambert. Nous choisirons l'ordre alphabétique et parlons de la loi de Beer-Lambert

(PERE, 1999).  $DO = \frac{1}{2.3} \ln \frac{\phi_0}{\phi} = \frac{K}{2.3} l.C = \epsilon l.C$  DO: densité optique  $\phi_0$  : L'énergie

lumineuse de la lumière incidente  $\phi$  : L'énergie de la lumière émergente  $l$  : La longueur du trajet optique  $\epsilon$  : Un coefficient spécifique de la substance pour la longueur d'onde choisie  $C$  : concentration de la substance en moles par litre dans le solvant  $K$  : constant

(AUDIGIE et al., 1995) **Condition de**

**la loi de Beer-Lambert** La loi de Beer-Lambert n'est vérifiée que si les conditions suivantes sont respectées ; La concentration doit être faible. Souvent, le domaine de linéarité ne dépasse pas quelques  $\text{m mol.l}^{-1}$ . On le contrôle en réalisant une courbe d'étalonnage. Lorsqu'un échantillon sort de ce domaine, il faut le diluer convenablement. Le milieu ne doit être ni trouble ni fluorescent Si le milieu est trouble, les particules diffusent dans toutes les directions des rayonnements incident, diminuant ainsi son intensité ; l'absorbance mesurée est alors supérieure à l'absorbance de la substance



dosée. Si le milieu est fluorescent, une partie du rayonnement émis peut frapper le récepteur photométrique ; l'absorbance lue est dans ce cas inférieure à l'absorbance de la substance dosée. Monochromatisme du faisceau incident Si le rayonnement n'est pas monochromatique, mais contient un intervalle spectral plus ou moins large, l'absorbance mesurée est l'absorbance moyenne sur cet intervalle. Toute fois, une relation de proportionnalité entre absorbance et concentration existe encore aux faibles concentrations. S'il n'y a pas l'interférence due à des absorbances non spécifiques de la substance dosée (PERE, 1999).

**3- Absorption** Une molécule biologique absorbe la lumière si elle possède dans sa structure un chromophore capable de capter l'énergie lumineuse (acides aminés aromatiques des protéines, base purique et pyrimidique des acides nucléiques...etc.). Quantitativement, l'amplitude d'un spectre d'absorption est reliée à la concentration de la solution étudiée par la loi de Beer-Lambert (PARTS, 2002).

**4- Influence des ions étrangers sur la coloration des solutions** Au cours de l'analyse colorimétrique, l'ion à doser, présent dans la solution, voisine habituellement avec divers ions étrangers qui peuvent eux aussi influencer sur la coloration de la solution. Cette influence peut se manifester par exemple dans les cas suivants : Des ions étrangers peuvent former avec le réactif : utilise lors du dosage, des complexes colorés, ou bien ils fixent le réactif sans créer un produit coloré. Il est des ions étrangers qui ont leur propre coloration. Les ions étrangers se présentent comme des anions qui fixent le cation à doser en un composé ou en un complexe peu dissocié (ALEXEES, 1966).

**5. Différents types de spectrophotomètres** On peut classer les spectrophotomètres en fonction de longueur d'onde des spectres et la nature des particules analysée (atomes ou molécules) en trois groupes qu'ils sont : Spectrophotomètres d'absorption atomique ; Spectrophotomètres d'absorption moléculaire (UV/ visible) ; Spectrophotomètre infrarouge. La figure 04 indique les différentes régions spectrales.

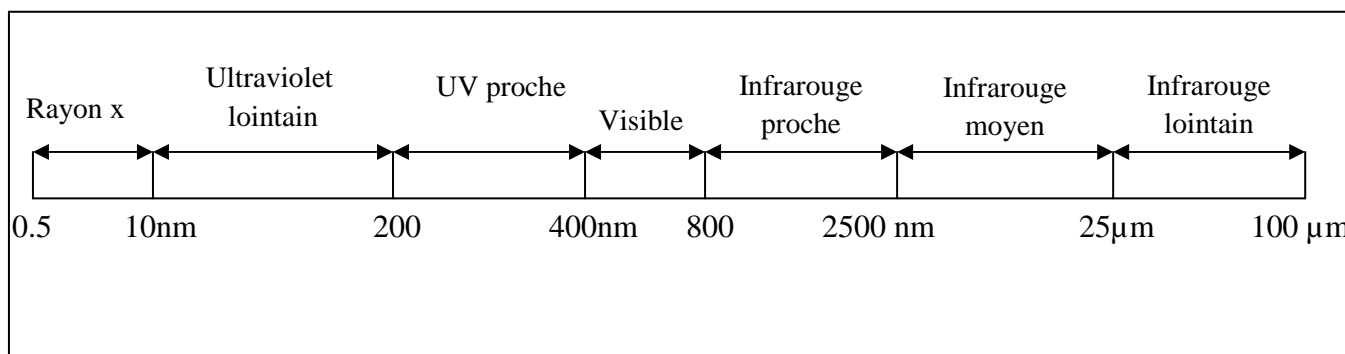


Figure 04 : Différentes régions spectrales (BERTRAND et al., 2000) 5.1.



**Spectrophotomètre d'absorption atomique** Un photon incident est totalement absorbé si son énergie est exactement égal à celle de existante entre deux niveaux d'excitation de l'atome (METAIS et al., 1979).

**5.1.1. Eléments constitutifs** Ce type de spectrophotomètre constitue par les éléments suivants :

**Sources lumineuses** Lampes à vapeur métallique: fournissent des raies larges (PERE, 1999) ; Lampes à cathode creuse: elles sont formés d'un tube en verre rempli d'un gaz rare sous faible pression, l'anode était un fil de tungstène (METAIS et al., 1979).

**Modulation du rayonnement émis par la source** Une modulation mécanique : peut être obtenue par un disque perforé tournant qui hache avec une grande régularité, le rayonnement émis entre la source de la vapeur atomique. Une modulation électrique : obtenue par alimentation électrique intermittente de la source qui entraîne donc une émission discontinue (PERE, 1999).

**Production de la vapeur atomique** La production de la vapeur atomique se fait par la flamme ou le four. Flamme: le brûleur représente l'élément essentiel des photomètres d'absorption. La qualité des mesures dépend de la géométrie et de la stabilité de la flamme. Four: Dans ce dispositif l'atomisation est réalisée par réduction des oxydes de fer par le carbone à haute température (AUDIGIE et al., 1992).

**Récepteur** Le récepteur photoélectronique doit rester sensible dans un large domaine spectral (190 à 850 nm) (PERE, 1999).

**Photomultiplicateurs** Les photomultiplicateurs d'électrons sont les plus utilisées, car ils se prêtent bien à l'amplification alternative, après modulation faisceau incident (METAIS et al., 1979).

**Détecteur** En effet, le faisceau reçu par le détecteur comprend le flux transmis par la flamme, après absorption, augmenté du flux émis par les atomes, après excitation (AUDIGIE et al., 1992).

**5.1.2. Classes de spectrophotomètres d'absorption atomique**

**Spectrophotomètre d'absorption atomique monofaisceau** L'amplification délivre un courant proportionnel au flux reçu. On compare donc le flux reçu lorsqu'on vaporise le blanc à celui obtenu lorsqu'on vaporise la solution à doser la différence permet d'obtenir la densité optique de la solution (PERE, 1999).

**Spectrophotomètre d'absorption atomique bifaisceau** Dans ce cas la lumière monochromatique est divisée en deux faisceaux (AUDIGIE et al., 1992).

**Spectrophotomètre d'absorption atomique à correction de l'absorbance non spécifique (l'Ans).** Correction de l'ANS par l'utilisation de l'effet de Zeeman : C'est le phénomène de décomposition des raies spectrales qu'on peut observer lorsque l'émission atomique se fait dans un champ magnétique intense. Les raies d'émission sont dédoublées en multiplets à répartition symétrique par rapport à la longueur d'onde de la raie existant lorsque le champ magnétique est nul. Ce sont les différentes valeurs du nombre quantique magnétique qui permettent d'interpréter ce

phénomène. Elles déterminent en effet les orientations possibles des orbitales atomiques dans un champ magnétique (PERE, 1999).

**5.1.3. Avantages de la méthode et interférences**

**Sensibilité:** L'absorption atomique est une méthode très sensible que la photométrie de flamme d'émission atomique.

**Spécificité:** Elle est en théorie parfaite, puisque seule des atomes de même nature que ceux excités dans la source de radiations absorberont la raie de résonance émise par la source. En pratique, il existe des perturbations chimiques ou physiques qui peuvent provoquer des interférences non négligeables (WILLARD *et al.*, 1995).

**5.2. Spectrophotomètres d'absorption moléculaire (UV/Vis)**

Dans le cas d'une molécule, le spectre observé est un spectre de bandes, résultant du chevauchement des différents spectres de raies relatifs à toutes les transitions électroniques et des modifications des niveaux vibrationnels et rotationnels qui s'ajoutent aux transitions électroniques (METAIS *et al.*, 1997).

**5.2.1. Eléments constitutifs**

**Sources lumineuses:** Son énergie ne doit pas varier au cours d'une mesure (KAMOUN *et al.*, 1974). Lampe à incandescence à filament de tungstène (domaine visible) ; Lampe à vapeur de mercure, fournit un spectre de plusieurs raies, dans l'ultraviolet (en particulier la raie à 366 nm) et dans le visible ; Lampe à arc au xénon, couvrant tout le spectre à partir de 260 nm ; Lampe à H<sub>2</sub> ou au D<sub>2</sub>, fournit un spectre continu dans UV jusqu'à 375 nm, puis discontinu. Leur enveloppe est en quartz (METAIS *et al.*, 1997).

**Système de sélection de longueur d'onde**

**Filtres:** Ils sont caractérisés par la longueur de leur transmission maximale et par leur bande passante plus ou moins large, pour les filtres colorés. Elle est de 20 à 50 nm; pour les filtres interférentiels elle est de 10 nm.

**Monochromateurs à réseaux:** Ils sont formés par un dioptre plan sur le quel sont tracés un grand nombre de fins parallèles diffractant la lumière, et permettant de choisir une longueur d'onde définie.

**Les monochromateurs à prismes:** Ils dispersent la lumière par réfraction. Un système de lentille (verre ou quartz) et de fente permet de concentrer les faisceaux lumineux de la rendre parallèle, et de sélectionner la bande passante (PARTS, 2002).

**Cuves:** Les cuves sont généralement des faces parallèles. Elles sont en verre ou en matière plastique pour les mesures dans le visible en quartz pour l'ultraviolet, le trajet optique généralement de 1 cm (METAIS *et al.*, 1979).

**Détecteurs :** Il est constitué par :

- Cellules photoélectriques photoémisives sous l'influence d'une radiation lumineuse. L'énergie lumineuse est transformée proportionnellement en énergie électrique ;
- Tubes photomultiplicateurs d'électrons: une mince couche de silicium semi conducteur est déposée sur une plaque de fer qui sert l'anode ;
- Tubes photomultiplicateurs d'électrons: Le flux lumineux frappe une photocathode ;
- Un convertisseur logarithmique permet d'obtenir les résultats en absorbance

et de la directement en concentration à l'aide d'un calculateur à affichage digital ou à imprimant (PERE, 1999). **Trajet optique:** Selon cet élément on peut connaître les deux classes du spectrophotomètre (KAMOUN et al., 1974). **5.2.2. Classes de spectrophotomètres d'absorption moléculaire (UV/Visible)** Selon le trajet optique on distingue deux types qui sont: **Appareil mono-faisceaux** La lumière mono-chromatique traverse la cuve et atteint le détecteur relié à un galvanomètre gradué en pourcentage de transmission ou en absorbance (AUDIGIE et al., 1992). **Appareils bi-faisceaux** Le flux de photons est divisé en deux faisceaux dont l'un traverse la cuve contenant l'échantillon à doser et l'autre d'une cuve de référence. Ces appareils peuvent être munis de deux détecteurs places en apposition, ou bien un seul détecteur recevant alternativement les deux faisceaux (METAIS et al., 1979). **5.3. Spectromètre d'absorption infrarouge** Est une technique utilisée en routine pour les analyses qualitatives, quantitatives et structurales de molécules. Alors que le rayonnement UV visible peut modifier les énergies électriques: vibrationnelles et rotationnelles de molécules, le rayonnement infrarouge usuel ne peut modifier que les énergies vibrationnelles et rotationnelles (PERE, 1999). **5.3.1. Eléments constatifs** **Montage:** On utilise habituellement le montage double faisceaux (ou montage différentiel). **Source de rayonnement:** Il est nécessaire que la source émette un rayonnement dont la longueur d'onde couvre tout le domaine infrarouge utilisée (2.5 à 15 nm). **Système dispersif:** On utilise en généralement un réseau. Toutefois, les appareils utilisés dans le visible doivent subir de profondes modifications pour être utilisable en infrarouge (BERTRAND et al., 2002). **Récepteur:** Dans le domaine infrarouge, on utilise les effets thermiques du rayonnement et leurs manifestations secondaires, essentiellement électriques. **Echantillons:** Ils peuvent présenter 3 formes: Gazeux: Ils sont alors emprisonnés dans une cuve de chlorure de potassium ; Liquide: Ils peuvent être soit purs, soit en solution dans tétrachlorure de carbone ; Solides : Ils se trouvent soit en suspension dans (Cl<sub>4</sub>, SO<sub>4</sub><sup>-</sup>) placés dans des pastilles à 1% dans le bromure de potassium (AUDIGIE et al., 1992). **5-3-2 Classification des spectrophotomètres infrarouges** La figure 05 détermine la classification des spectromètres selon leurs principes de fonctionnement

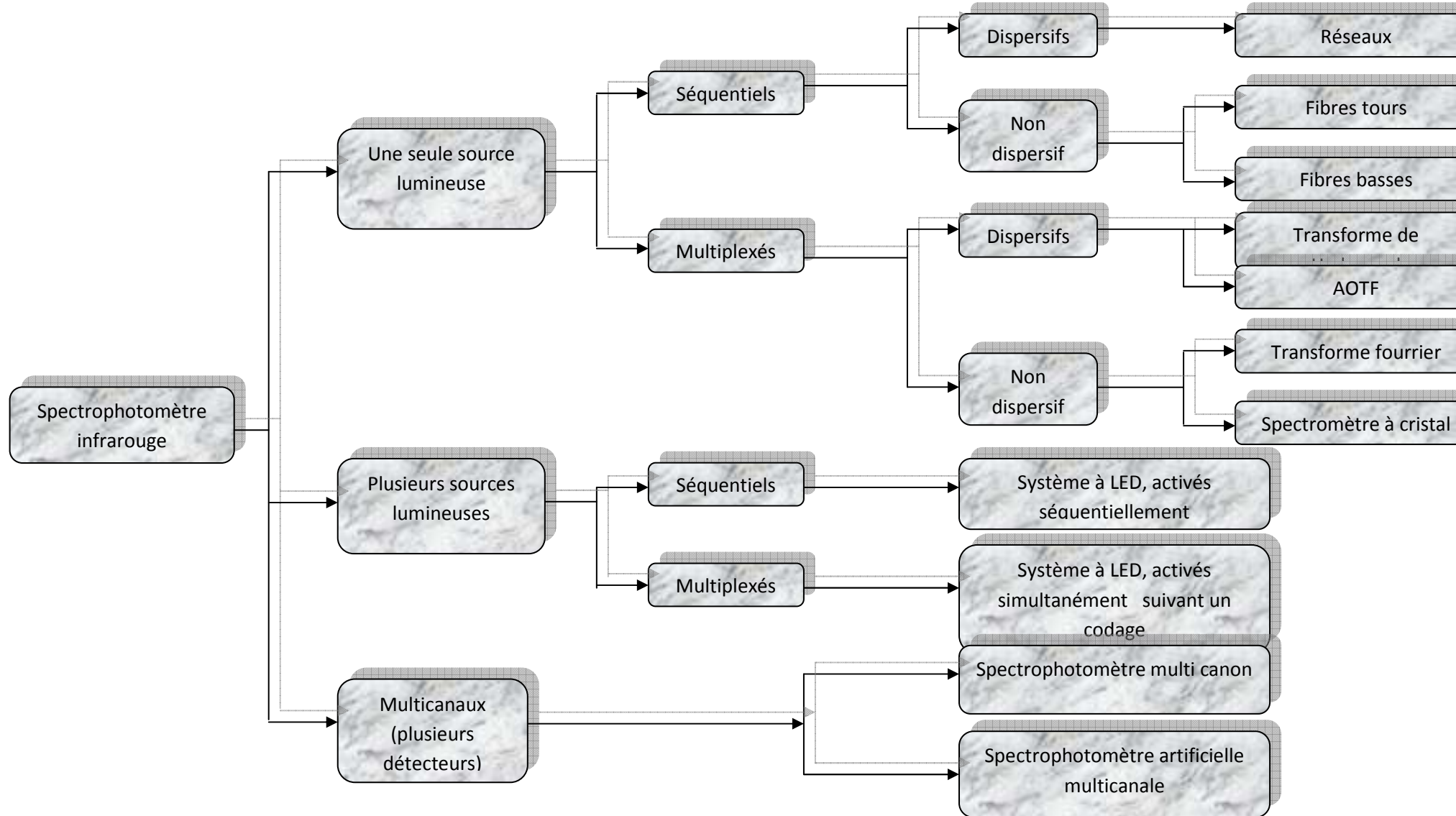


Figure 05 : Classification des spectrophotomètres selon leur principe de fonctionnement (BERTRAND et al., 2000).

**6- Application des différents spectrophotomètres** On résume les applications des spectrophotomètres dans le tableau suivant **Tableau 12 : Domaines d'applications des différents spectrophotomètres**

Spectrophotomètre d'absorption atomique	Spectrophotomètre d'absorption moléculaire	Spectrophotomètre d'infrarouge
Les analyses biologiques (exemple: calcium) ;  Les analyses des eaux ;  Dosages des tracs des métaux dans les produits alimentaires ;  Dosages des éléments dans les extraits de sol de plantes ;  Analyses des huiles <b>(PERE., 1999)</b>	Les analyses biologiques dosages des différents constituants organiques du sang (exemple: cholestérol)  Dosage des substances absorbantes en UV.	L'identification des composés organiques, vérifiés la pureté d'un produits ;  Détermination de principales liaisons ;  Déceler la présence de liaisons hydrogène. <b>(AUDIGIE et al., 1992)</b>

**7. Erreurs possibles dans l'analyse quantitative:** Les erreurs d'analyse quantitatif se divisent d'après leurs caractères en: **Erreurs systématiques:** Ce sont des erreurs de signe constant au celle qui sont dues à deux causes déterminées, elles peuvent augmenter ou diminuer, le résultat comme les erreurs liée à l'utilisation des appareils et de réactifs. **Erreurs dues au hasard:** Il peuvent apparaître lorsqu'on effectue n'importe quelle mesure ainsi qu'au cours de n'importe quelle détermination analytique malgré tout le soin qu'on porte à son exécution .Il est possible de constater théoriquement l'influence des erreurs dues au hasard en calculant les résultats obtenus après une série de dosages parallèles et en appliquant les méthodes de statistique mathématique. **Erreurs dues à la négligence:** Ce terme qualifie les erreurs grossières déformant considérablement les résultats de l'analyse. On n'en tient pas compte lors des calculs des résultats moyens d'une série de détermination parallèle **(ALEXEES, 1966).**

# *Chapitre III*

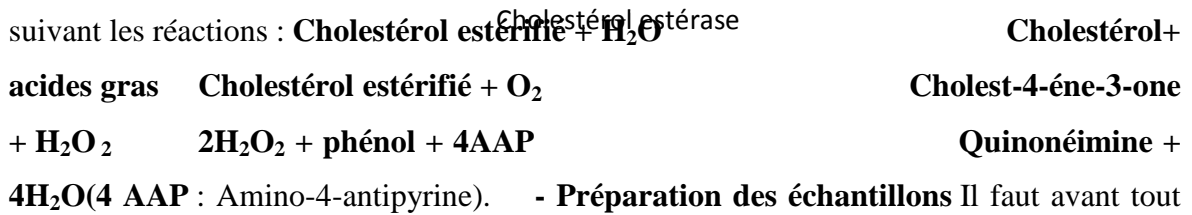
## *Matériels et méthodes*

I.



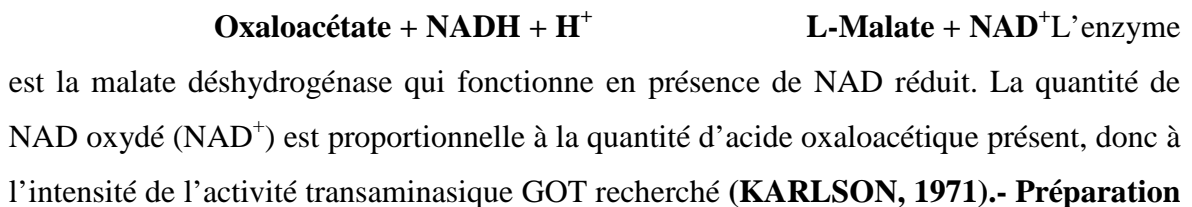
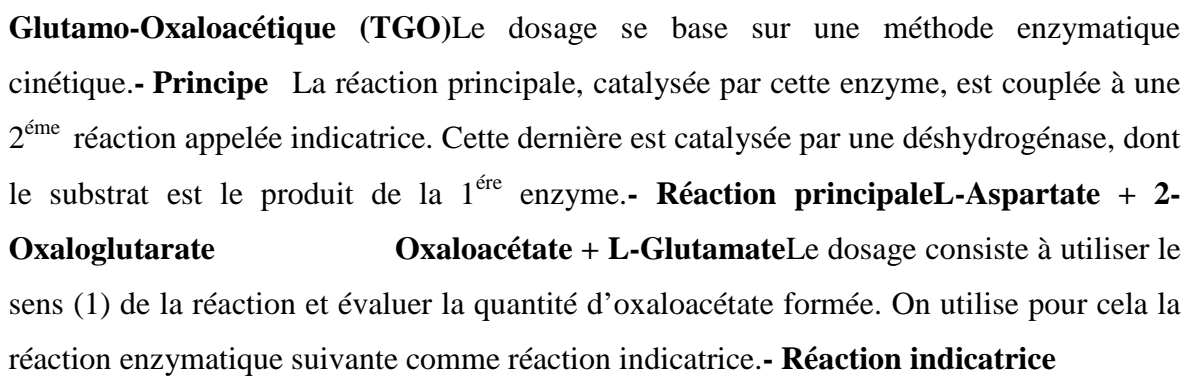
**Matériels1- Matériels biologiques1.1-Population étudiée** Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire d'analyses médicales de l'hôpital « Mohamed BOUDIAF » de Ouargla, sur des patients hospitalisés au service médecine interne. **1.2- Prélèvement et préparation des échantillons** Le prélèvement sanguin s'effectue par une ponction veineuse d'un sujet à jeun. Ce sang prélevé est placé dans des tubes secs sans anticoagulant ou des tubes héparines, puis centrifugés à 3000 tours par minutes. Les tubes sont numérotés et portent les noms des patients. **2. Appareillage** Il se compose de : Spectrophotomètre (ANADEO) ; Centrifugeuse (JOUAN) ; Bain marie (NÜVE bath 20) ; Micropipettes fixes de 500 µl et de 50 µl. A cet ensemble il faut ajouter des : Seringues ; Embouts bleus, et embouts jaunes ; Tubes héparines et tubes secs ; Tubes à hémolyse en verre ; Portoir. **3- Réactifs** Pour le dosage des paramètres étudiés (cholestérol, créatinine et transaminase), divers réactifs sont utilisés : Pour le dosage de cholestérol, le réactif R comprend Tampons pipes, pH 6,7 ; Phénol ; Chololate de Sodium ; Amino-4- antipyrine ; Cholestérol estérase ; Cholestérol oxydase ; Peroxydase. (ELITECH, 2005). Pour le dosage de la créatinine, les réactifs utilisés sont préparés au laboratoire. Il comprend : **Réactif 1** : Hydroxyde de Sodium ; **Réactif 2** : Acide picrique. (BIOMEGHREB, 2005). Pour le dosage des transaminases, les réactifs sont également préparés au laboratoire : **Aspartate aminotransférase (ASAT)** **Réactif 1 (R<sub>1</sub>)** Tampon tris, pH 7,80 (30°C) L-Aspartate LDH : Lactate Déshydrogénase MDH : Malate Déshydrogénase **Réactif 2 (R<sub>2</sub>)** Cétoglutarate NADH **Alanine aminotransférase (ALAT)** **Réactif 1 (R<sub>1</sub>)** Tampon tris, pH 7,50 (30°C) L -Alanine LDH: Lactate Déshydrogénase Azide de Sodium NaN<sub>3</sub> **Réactif 2 (R<sub>2</sub>)** 2-oxyglutarate NADH (ELITECH, 2005) **II- Méthodes1- Mode opératoire** Les étapes sont généralement les mêmes, mais il y a quelques différences pour le dosage des trois paramètres à étudier. Ces différences ont été mentionnées dans la partie bibliographique. Les points communs sont : **1.1 Prélèvement** Il a lieu chez les patients, à jeun, qui se présentent au service d'hématologie. Le prélèvement est effectué dans des tubes héparines. **1.2- Centrifugation** L'échantillon est centrifugé de à 4000 tours par minute, pendant 10 minutes. **1.3. Pipetage** Pipeter dans des tubes à essai le sérum et les réactifs pour préparer le blanc, l'étalon et l'échantillon. **1.4. Incubation** Les tubes sont mis à incuber pendant une période précise (spécifique à chaque paramètre) à température ambiante. **1.5 Lecture** Elle est basée sur celle de l'absorbance de l'échantillon après la lecture de l'étalon et du blanc, dans une longueur d'onde bien précise. Par la suite, le calcul de la concentration du paramètre à étudier est effectué. **2- Dosage 2.1. Dosage du**

**cholestérol** Le dosage du cholestérol est effectué par une méthode colorimétrique enzymatique. - **Principe** Basé sur la détermination enzymatique du cholestérol total, suivant les réactions :



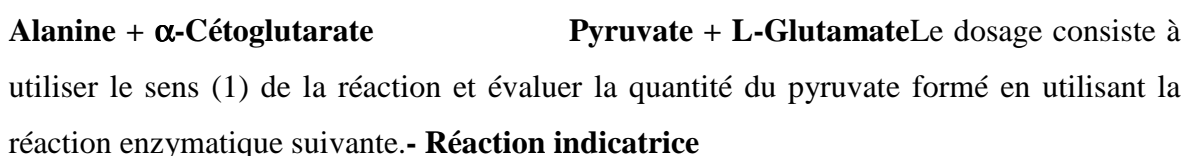
**créatinine** Le dosage de la créatinine se base sur une méthode cinétique colorimétrique. - **Principe** La créatinine forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide picrique. - **Préparation des échantillons** Pour le dosage de la créatinine, il faut suivre les étapes mentionnées dans Tab.06. Les tubes sont mis à incuber pendant 30 secondes, puis la densité optique, est lue exactement après une minute.

**2.3. Dosage de la Transaminase Glutamo-Oxaloacétique (TGO)** Le dosage se base sur une méthode enzymatique cinétique. - **Principe** La réaction principale, catalysée par cette enzyme, est couplée à une 2<sup>ème</sup> réaction appelée indicatrice. Cette dernière est catalysée par une déshydrogénase, dont le substrat est le produit de la 1<sup>ère</sup> enzyme. - **Réaction principale**



Cette préparation est consignée dans le tableau 11. Laisser les tubes incuber pendant 60 secondes, puis Lire l'absorbance à longueur d'onde 340 nm.

**2.3. Dosage de la Transaminase Glutamo-Pyruvique (GPT)- Principe** Comme la GOT, le dosage de la GPT (ALAT), nécessite deux réactions. La première est la réaction principale, catalysée par la GPT, la deuxième est la réaction indicatrice, catalysée par une déshydrogénase qui fonctionne en présence de NAD réduit. - **Réaction principale**





déshydrogénase (**KARLSON, 1971**).- **Préparation des échantillons** : On utilise les mêmes étapes que celles de la TGO.

# *Chapitre IV*

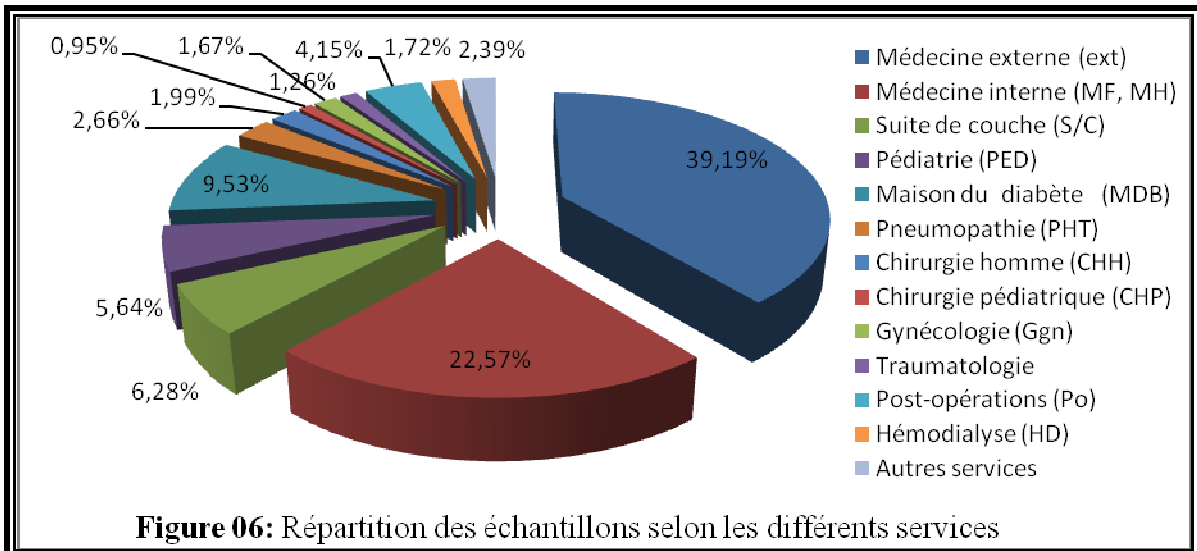
## *Résultats et discussions*

**Chapitre IV : Résultats et discussions** Pour la présence étude, il utilisé des fiches contenant le nom du patient et le service, mais elles ne contiennent pas l'âge du patient.

L'étude est effectuée durant une période de 03 mois (décembre 2006, janvier et février 2007).**1- Provenance**Le tableau 13 et Figure 06 indiquent la répartition des patients selon les divers services.**Tableau 13 : Répartition des échantillons selon les différents services**

Différents services	Patients	
	Nombre	Pourcentage (%)
Médecine externe (ext)	868	39,18
Médecine interne (MF, MH)	500	22,57
Suite de couche (S/C)	139	6,27
Pédiatrie (PED)	125	5,46
Maison du diabète (MDB)	211	9,52
Pneumopathie (PHT)	59	2,66
Chirurgie homme (CHH)	44	1,98
Chirurgie pédiatrique (CHP)	21	0,94
Gynécologie (Ggn)	37	1,67
Traumatologie	28	1,26
Post-opérations (Po)	92	4,15
Hémodialyse (HD)	38	1,71
Autres services	53	2,39
<b>Total</b>	<b>2215</b>	<b>99,99</b>

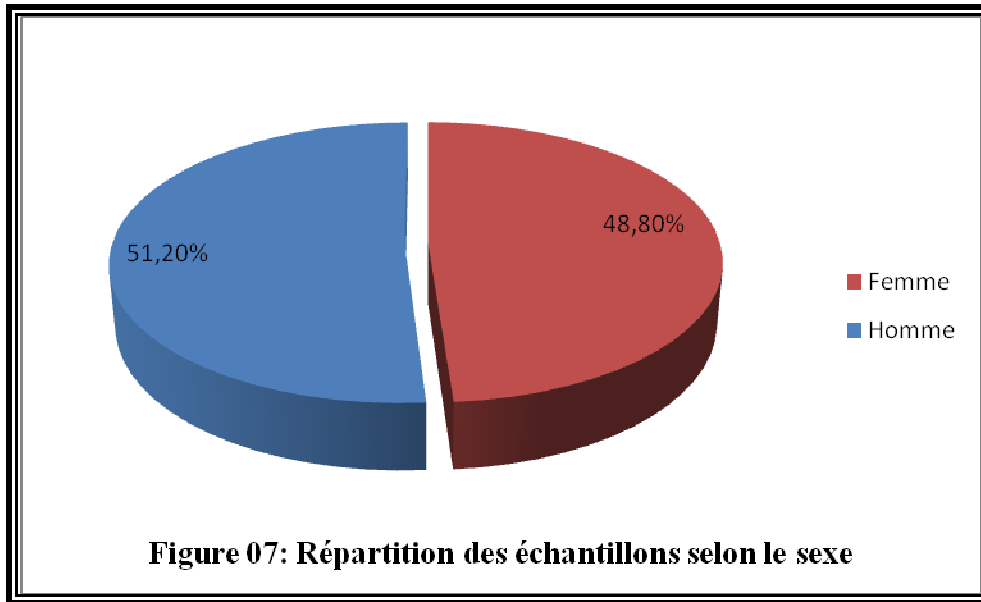
MF : médecine femmes MH : médecine hommes



Les résultats montrent qu'il y a un nombre élevé de patients provenant des médecines externes (39.18%) et internes (22.57%). Les autres services présentent des chiffres moyens et rapprochés tels que : pour le service maison du diabète (9.52%), suite de couches (6.27%), pédiatrie (5.46%), post-opérations (4.15%), pneumopathie (2.66%). Les autres services occupent (2.39%), hémodialyse (1.71%), gynécologie (1.67%) et traumatologie (1.26%). Par contre la chirurgie pédiatrique présente le nombre le plus bas (0.94%).

**Sexe** Le **Tab. 14** et **Fig. 07** montrent un certain équilibre entre les sexes selon les échantillons étudiés. **Tableau 14 :** Répartition des échantillons de médecine interne selon le sexe

Sexe	Nombre	Pourcentage (%)
Femme	244	48,80
Homme	256	51,20
Total	500	100

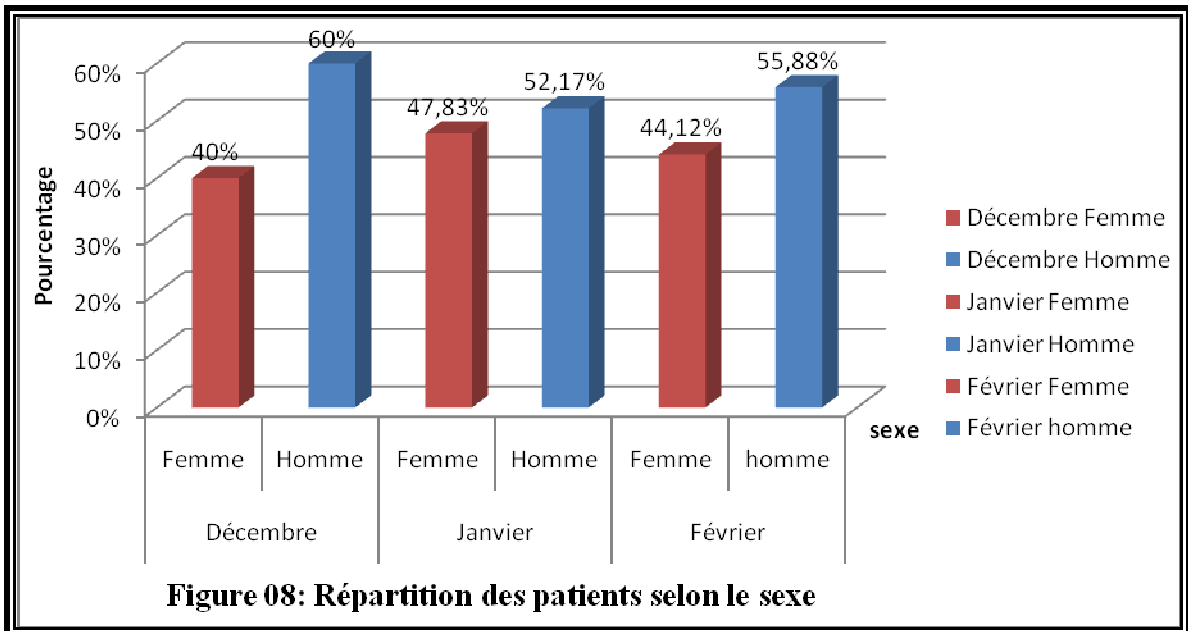


Les résultats laissent remarquer qu'il y a un certain équilibre entre les patients (51.20%) et les patientes (48.80%).

**3- Cholestérol** Le **Tab.15** et la **Fig.08** déterminent les patients ayant les analyses de cholestérolémie selon le sexe durant les trois mois de cette étude. **Tableau 15 :**

Répartition des patients selon le sexe et les mois

Mois	Nombre total	sexe	Nombre	Pourcentage (%)
Décembre	75	Femme	30	40
		Homme	45	60
Janvier	69	Femme	33	47,82
		Homme	36	52,17
Février	68	Femme	30	44,11
		homme	38	55,88

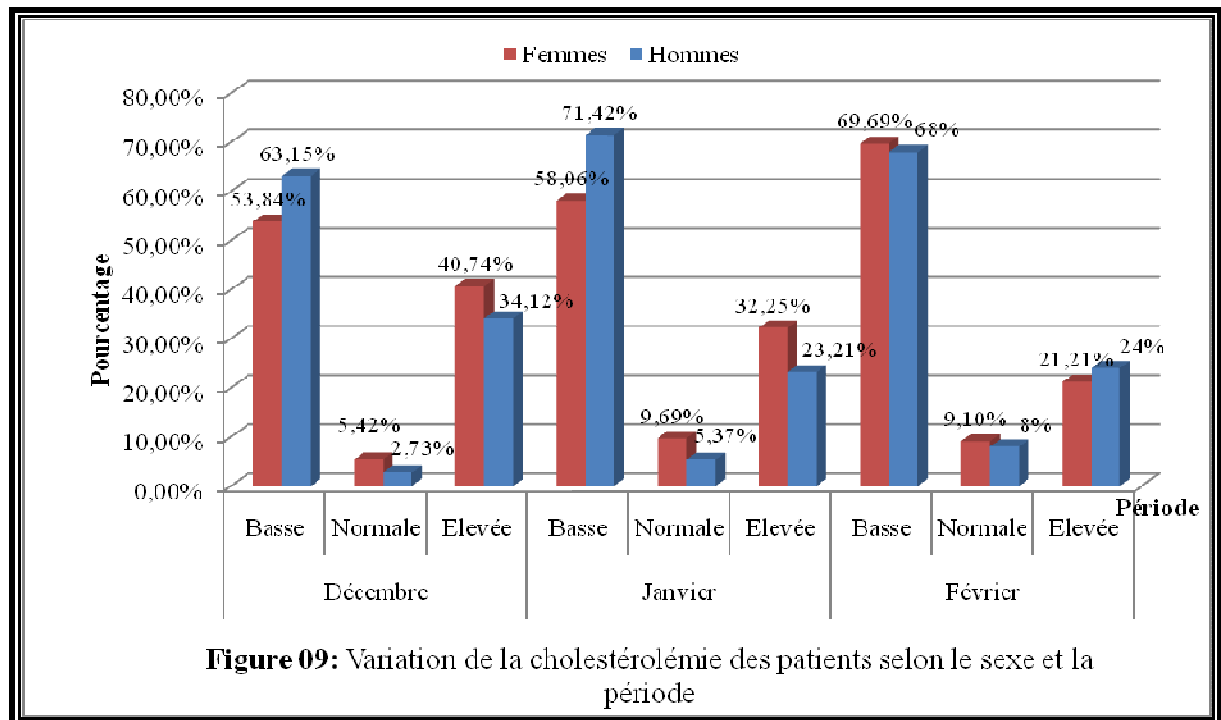


**Figure 08: Répartition des patients selon le sexe**

La répartition des patients durant les trois mois, montre un nombre assez élevé au mois de décembre (75) et un certain équilibre entre janvier (69) et février (68) (**Tab. 15**). Les résultats indiquent qu'il y a une augmentation plus marquée chez les hommes par apport aux femmes, au cours des trois mois. En décembre, on observe une grande différence entre les hommes (60.00%) et les femmes (40.00%), ainsi qu'en janvier marqué par une légère inégalité entre les hommes (55.88%) et les femmes (44.11%) (**Fig. 08**). Le **Tab. 16** détermine la fluctuation de la cholestérolémie des patients au cours des trois mois. **Tableau**

**16 : Variation de la cholestérolémie des patients selon le sexe et la période**

période	Femmes			Hommes		
	Variation	Nombre	(%)	Variation	Nombre	(%)
Décembre	Basse	14	53,84	Basse	24	63,15
	Normale	2	5,42	Normale	1	2,73
	Elevée	11	40,74	Elevée	13	34,12
Janvier	Basse	18	58,06	Basse	40	71,42
	Normale	3	9,69	Normale	3	5,37
	Elevée	10	32,25	Elevée	13	23,21
Février	Basse	23	69,69	Basse	34	68,00
	Normale	3	9,10	Normale	4	08,00
	Elevée	7	21,21	Elevée	12	24,00



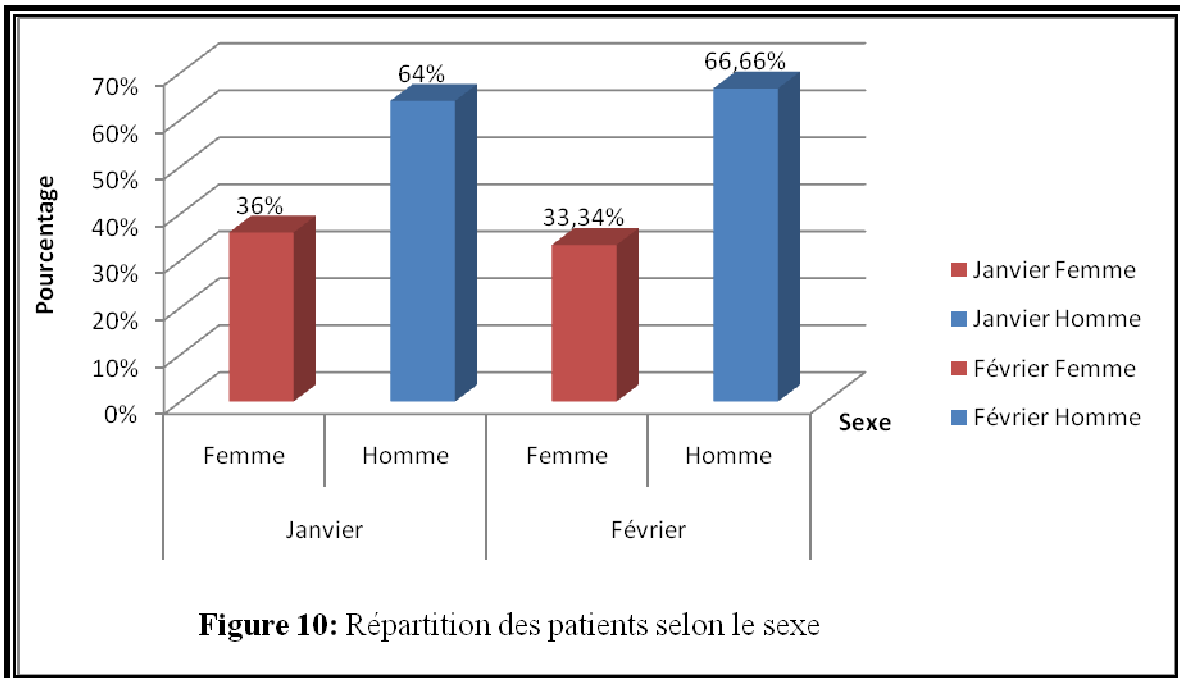
**Figure 09:** Variation de la cholestérolémie des patients selon le sexe et la période

Les résultats du **Tab.16** et la **Fig. 09**, laissent apparaître que les patients ayant une hypocholestérolémie présentent un nombre supérieur à ceux ayant une hypercholestérolémie, chez les deux sexes, durant les trois mois. Les femmes (53.84%) et les hommes (63.15%) enregistrent une hypercholestérolémie < à 1.4 g/l (3.9 m mol/l) en décembre. On observe également l'existence de patients ayant une cholestérolémie normale en décembre, les femmes avec 5.42% et les hommes 2.73% ; ceci peut être dû soit : aux patients sous traitement pour régler le taux du cholestérol dans le sang ,soit aux maladies qu'ils n'influencent pas sur la cholestérolémie. Par contre la diminution peut être due aux malnutritions. Ainsi, l'augmentation peut avoir une relation avec les apports alimentaires riches en graisse causant l'élévation de la cholestérolémie.

#### 4- Créatinine

Les résultats du **Tab.17** et **Fig. 10** déterminent la répartition des patients ayant une créatininémie selon le sexe. **Tableau 17** : Répartition des patients selon le sexe et les mois

Mois	Nombre total	sexe	Nombre	Pourcentage (%)
Janvier	50	Femme	18	36,00
		Homme	32	64,00
Février	27	Femme	9	33,33
		homme	18	66,66

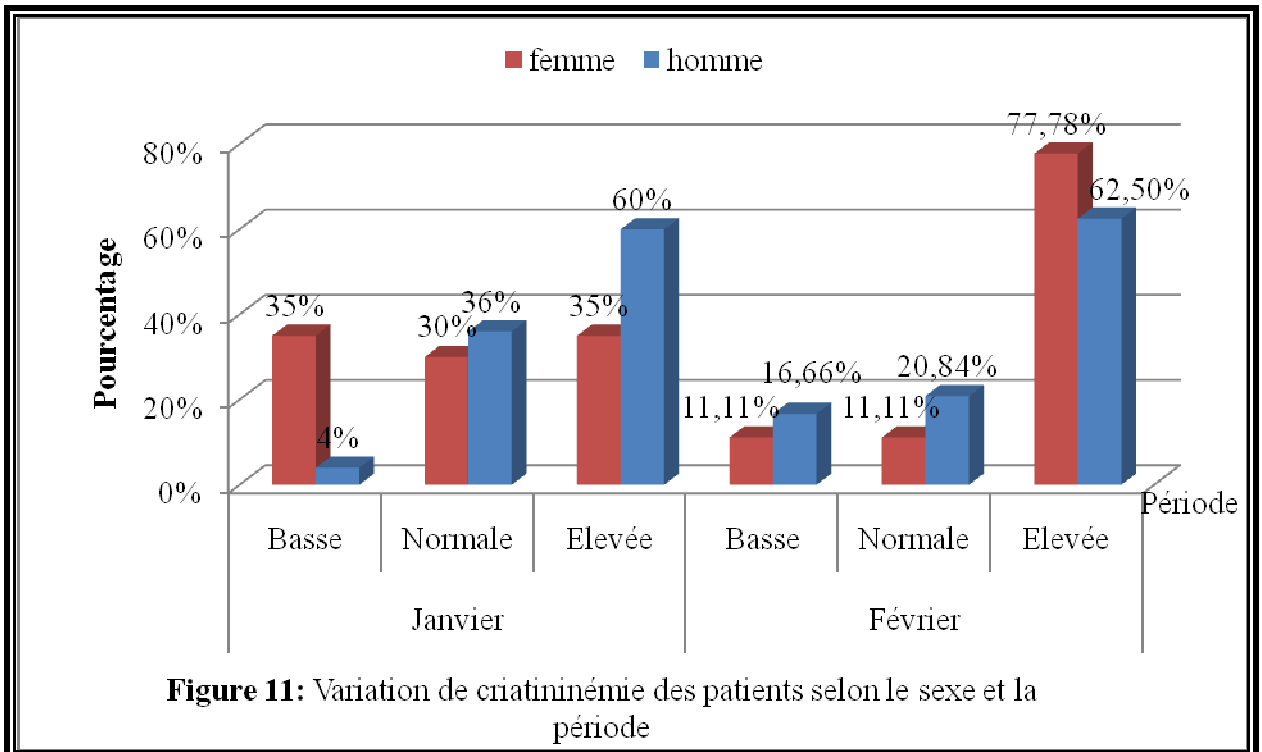


**Figure 10:** Répartition des patients selon le sexe

Les résultats montrent une grande inégalité au cours des deux mois d'étude. En janvier, les femmes enregistrent 36.00% et les hommes 64.00%. En février les taux sont identiques, à savoir que les femmes présentent 33.33% et les hommes 66.66%. **Tableau 18 :** Variation de la créatininémie des patients selon le sexe et la période

période	Femme			Homme		
	Variation	Nombre	(%)	Variation	Nombre	(%)
Janvier	Basse	7	35,00	Basse	1	4,00
	Normale	6	30,00	Normale	9	36,00
	Elevée	7	35,00	Elevée	15	60,00
Février	Basse	1	11,11	Basse	4	16,66
	Normale	1	11,11	Normale	5	20,84
	Elevée	7	77,77	Elevée	15	62,50





Les résultats du **Tab.18** et la **Fig. 11** déterminent une certaine stabilité, en janvier, chez les femmes (entre 30 et 35%) ayant une hypocréatininémie (< 8 mg/l) et celles ayant une hypercréatininémie (> 12 mg/l). Par contre chez les hommes, nous constatons une inégalité entre les patients : entre ceux à hypocréatininémie (4.00%). C'est-à-dire moins de 8 mg/l (6.8mmol/l) et les patients à hypercréatininémie (60.00%). C'est-à-dire supérieure à 12 mg/l (13.6 m mol/l) en février, la diminution de la créatininémie chez les patients est (16.66%) et les patientes (11.11%), par contre l'augmentation chez les patients (62.50%) et les patientes (77.77%). Il faut noter que la créatinine totale du sang ne varie pratiquement que dans les lésions rénales (**BOULANGER et al., 1968**). En effet une baisse de 30% de la capacité de filtration glomérulaire n'affecte pas la créatininémie ; par contre, en cas d'insuffisance rénale aiguë, la montée de la créatinine est retardée. La clairance peut être basse et la créatininémie est normale, la clairance est donc un meilleur examen pour suivre une insuffisance rénale (**LABESCAT, 2003**). Toutefois, on peut dire que l'élévation de créatinine plasmatique est un signe de dysfonctionnement rénal (**DOROSZ, 2002**).

On observe aussi l'existence de patients ayant un taux de créatinine normal, ceci peut s'expliquer par le fait que ces personnes soient sous traitement pour régler la créatinine dans le sang.

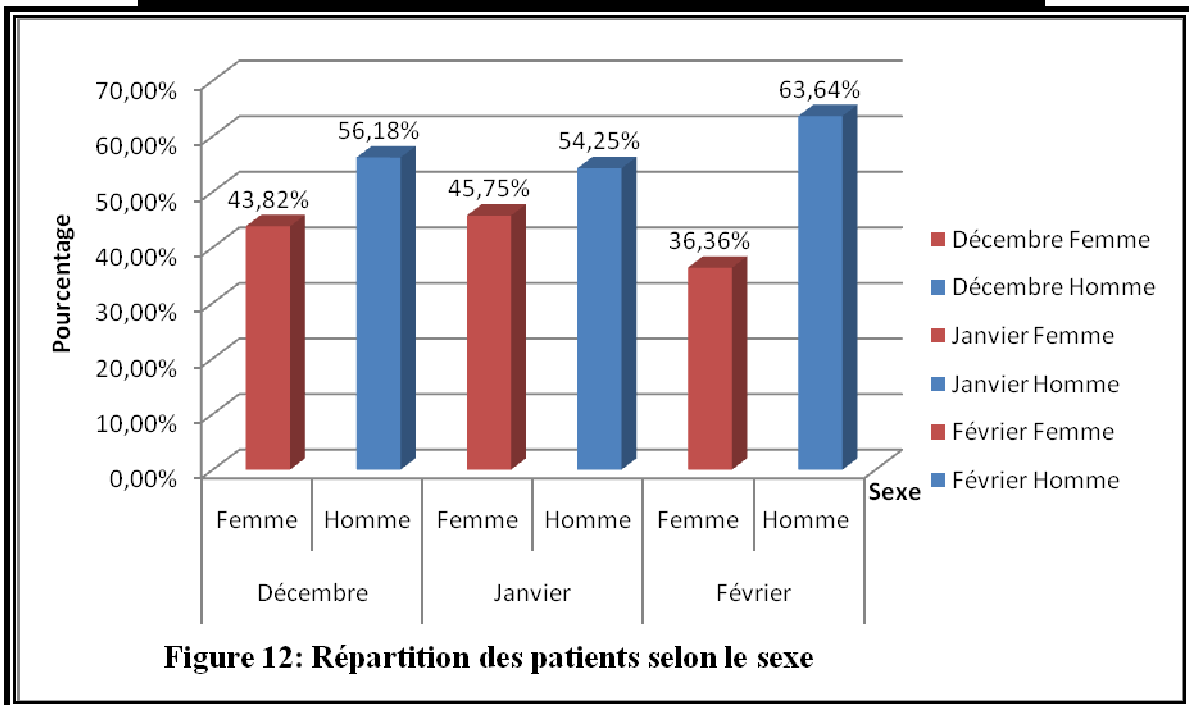
**5- Transaminases**

**5.1- Transaminase Glutamo-Oxaloacétique (TGO)**

Les résultats du **Tab.19** et **Fig. 12** déterminent la répartition des patients ayant une TGO selon le sexe.

**Tableau 19 :** Répartition des patients selon le sexe

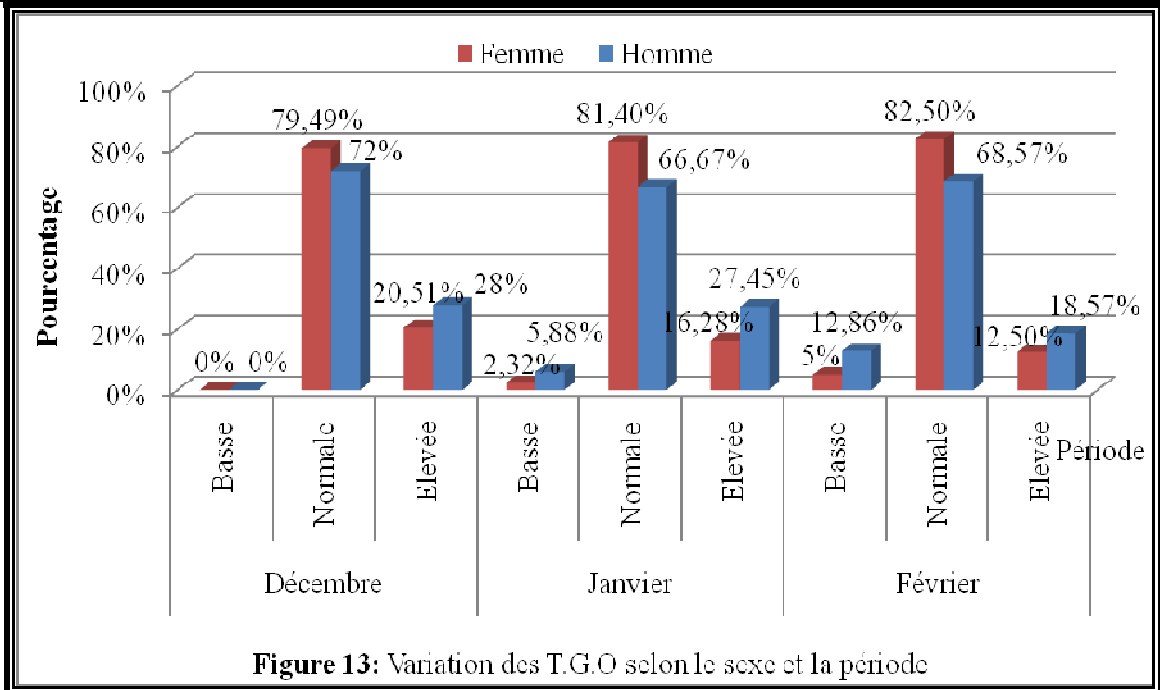
Mois	Nombre total	sexe	Nombre	Pourcentage (%)
Décembre	89	Femme	39	43,82
		Homme	50	56,17
Janvier	94	Femme	43	45,74
		Homme	51	54,25
Février	110	Femme	40	36,36
		homme	70	63,63



En général, le nombre de patients hommes est supérieur à celui des femmes. Puis qu'il est toujours > 50% et ce pour les trois mois (Fig. 12). **Tableau N° 20** : Variation des TGO selon le sexe et la période

période	Femme			Homme		
	Variation	Nombre	(%)	Différence	Nombre	(%)
Décembre	Basse	0	0	Basse	0	0
	Normale	31	79,43	Normale	36	72,00
	Elevée	8	20,51	Elevée	14	28,00
Janvier	Basse	1	2,32	Basse	3	5,88
	Normale	35	81,39	Normale	34	66,66
	Elevée	7	16,27	Elevée	14	27,45
Février	Basse	2	5,00	Basse	9	12,85

<b>Normale</b>	33	82,50	<b>Normale</b>	48	68,57
<b>Elevée</b>	5	12,50	<b>Elevée</b>	13	18,57

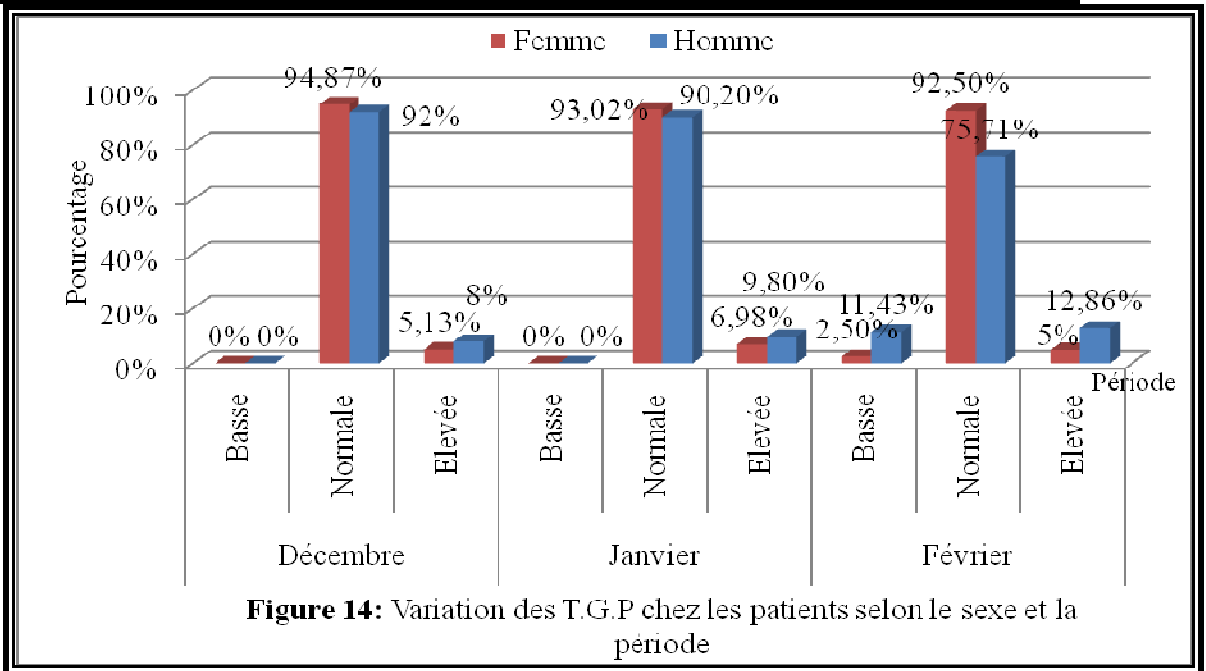


Les résultats du **Tab.20** et la **Fig. 13** laissent remarquer que les patients à normale TGO sont supérieurs aux autres cas (TGO élevée ou basse) pour les deux sexes et ce durant les trois mois . Pour les femmes (79.43%), et les hommes (72.00%) présentent des TGO inférieurs à 40u/l, en décembre. En janvier et février, on n’observe en général que l’augmentation des TGO à tendance à s’augmenter au lieu de diminuer. **5.2.**

**Transaminase Glutamo-pyruvique (T G P)** Les résultats du **Tab. 21** et la **Fig. 14** déterminent la variation (T G P) chez les patients selon le sexe et la période **Tableau 21:** variation des TGP chez les patients selon le sexe et période

période	Femme			Homme		
	Variation	Nombre	(%)	Variation	Nombre	(%)
Décembre	<b>Basse</b>	0	0	<b>Basse</b>	0	0
	<b>Normale</b>	37	94,87	<b>Normale</b>	46	92,00
	<b>Elevée</b>	2	5,12	<b>Elevée</b>	4	8,00
Janvier	<b>Basse</b>	0	0	<b>Basse</b>	0	0
	<b>Normale</b>	40	93,02	<b>Normale</b>	46	90,19
	<b>Elevée</b>	3	6,89	<b>Elevée</b>	5	9,80
Février	<b>Basse</b>	1	2,50	<b>Basse</b>	8	11,42
	<b>Normale</b>	37	92,50	<b>Normale</b>	53	75,71

	Elevée	2	5,00	Elevée	9	12,86
--	--------	---	------	--------	---	-------



**Figure 14:** Variation des T.G.P. chez les patients selon le sexe et la période

Généralement, pour les transaminases (TGO et TGP) les résultats sont relativement proches. Les patientes ayant un TGP normal (94,87%) et les patients (92,00%) par contre il est augmenté chez les femmes (5,12%) et les hommes (8,00%), en décembre. Ainsi que les patients ayant une TGP basse sont nul.

**6- Observations personnelles** Durant notre stage à l'hôpital « M<sup>ed</sup> BOUDIAF », nous avons constaté des insuffisances pouvant influencer sur la fiabilité des résultats. Nous citerons :

**Insuffisances techniques** Les tubes sont rincés à l'eau distillée, puis réutilisés. Ces tubes doivent être à usage unique pour éviter toute contamination de la perturbation des résultats. Les réactifs ne sont pas conservés à température convenable. Le prélèvement et la manipulation des échantillons de sang se fait sans gants généralement.

**II. Insuffisances administratives** Les analyses sont classées seulement selon le sexe, l'âge n'étant pas mentionné, sachant que ce facteur est très important dans la lecture et l'interprétation des résultats obtenus. Le laboratoire se situe au 3<sup>ème</sup> étage ce qui oblige les patients externes à faire un effort physique qui pourrait influencer certains résultats.

# *Conclusion*

**Conclusion** La biochimie analytique permet de détecter les biomolécules plasmatiques, en titre d'exemple : cholestérol, créatinine et transaminases. L'augmentation et la diminution de ce taux servent l'apparition des symptômes de diverses maladies. Et pour bien déterminer la maladie causant cette perturbation, il faut comparer les symptômes observés sur le malade et les symptômes des autres maladies. Le spectrophotomètre est un appareil qui sert à analyser quantitativement les différents éléments surtout dans les domaines suivants : agriculture, pédologie, analyse des eaux et du sang...pour cette étude, le spectrophotomètre étudié effectue des analyses qui se divisent en trois types tels que : la biochimie, l'hématologie et la sérologie. Notre étude statistique qui a été réalisée sur 500 patients hospitalisés, a été montré que les facteurs tels que (l'âge, l'état physiologie, maladies...etc.) influent sur la quantité de quelques constituant du sang.

*Références  
bibliographiques*

**AUTEURSALEXEES .V, 1966** –Analyse quantitative. Editions MIR, 9 p.

**ANONYME, 1961**-Choix des techniques de biochimie clinique. SAMIE, 21-23, rue Teulère Bordeaux, p 8.

**ANONYME, 1999** – Lipides et stéroïdes, département de technologie. pp 19 - 21.

**AUDIGIE. CL, DUPONT. G ET ZONZAIN.F, 1992**- Principes des méthodes d'analyse biochimique. Tome 2, 3<sup>ème</sup> édition. Doin éditeur. Paris, 3p.

**AUDIGIE. CL, DUPONT. G ET ZONZAIN.F, 1995**- Principes des méthodes d'analyse biochimique. Tome 1, 2<sup>ème</sup> édition, Doin éditeur. Paris, pp 110-122.

**BERTRAND. D, GRAPPIN. R, LACHENAL. G, 2000**- La spectroscopie infrarouge et ces applications analytiques, 2p.

**BERAUD. J, ARNOULD.J ET BEGEL.M, 2001**- Le technicien d'analyses biologiques. 2<sup>ème</sup> édition. Editions M I R, 21p.

**BOULANGER. P, POLONOVSKI. J ET TAYEAU.F, 1968**- Biochimie médicale. Fascicule 3, 8<sup>ème</sup> édition, Paris (6), 5p.

**BOULANGER. P, POLONOVSKI. J ET TAYEAU.F, 1968**- Biochimie médicale. Fascicule 1, 2<sup>ème</sup> édition, Paris (6), p 179.

**DOROSZ.P, 2002** -Guide pratique des analyses médicales. 3<sup>ème</sup> édition, Paris 6p.

**FIACRE. A, PLOUVER. E ET VINCENOT. A, 2002** -Les examens de laboratoire. Paris p9.

**GHNASSIA. J. C, DESCH. G ET DUCHASSAING. D, 1998**- Echantillons biologiques phase pré analytique et prélèvements en biologie médicale. Edition Elevation, 12p.

**HAKAWATI. I, KUBAB. N, ALAJATI. S, 1992**- Guide des examens biologiques, 2<sup>ème</sup> édition, Ed Lamarre, 7p.

**KAMOUN. P, LAURIAT.F ET ATARY.F, 1974**- Appareils et méthodes en biochimie. Ed Flammarion, Paris, 22p.

**KAMOUN. P, FAJAVILLE.J.P et ACHARD.J. M, 2002**- Guide des examens de laboratoire. 4<sup>ème</sup> édition, Paris, 23p.

**KARLSON. P, 1971**-Biochimie, 2<sup>ème</sup> édition, Doin, Paris, 2p.

**KRUH. J, 1971**-Biochimie étude médicale et biologique. Hermann, Paris, 4p.

**LABASCAT. J, 2003**-Guide des examens complémentaires. Editions Lamarre, pp 23-25.

**LEFVRE. O et BINET. A, 1996**-Les biomolécules. Masson, p127.

**LEVALLOIS. M. P, LAMAIRE. V et BAT. C ,2005**- Larousse médicale, 1<sup>ère</sup> édition, Paris cedex, 17p.

**METAIS. P, AGNERAY. J et FERARD. G, 1979**- Biochimie clinique. 2<sup>ème</sup> édition, SIMEP S.A. Paris, 10p.

**MASSARD. C, 2002**- Biochimie structurale et métabolique. 2<sup>ème</sup> édition, Deboeck, 4p.

**PERE. J. P, 1999**-Techniques spectroscopiques en biochimie analytique. 2<sup>ème</sup> édition, C. R. D.P, pp 29-84.

**POLVONOSKI. M, TAYEAU. Fet MANDEL. P, 1973**-Biochimie médicale. Fascicule 2, 2<sup>ème</sup> édition, Masson, 2p.

**PRATS. M, 2002**-Biochimie méthodes biophysiques expérimentales. Dound, Paris, 7p.

**ROAD. D, CRUMLIN. D et ANTRIN. C, 1997** - Randox, united kingdom.

**WEIL. H, BONNET. J et CHAMBON. P, 2001**- Biochimie



générale. 9<sup>ème</sup> édition, Dound, p 565. **WILLARD.H.H, MERRITT. L. L et DEAN.J. A,**  
**1995-**Méthodes physiques d'analyses chimiques. 1<sup>ère</sup> édition,  
5p. **ORGANISMESBIOLABO, 1998-** Fiches technique. **BIOMEGHREB, 2005-** Fiche  
technique. **ELITECH, 2004 et 2005-** Fiches techniques. **REFERENCES**  
**ELECTRONIQUE** Site **01 :www. Doctissimo. Fr.**

# *Annexes*



Annexe

II

Figure

15:



Seringue.

Figure 16:

Micropipette

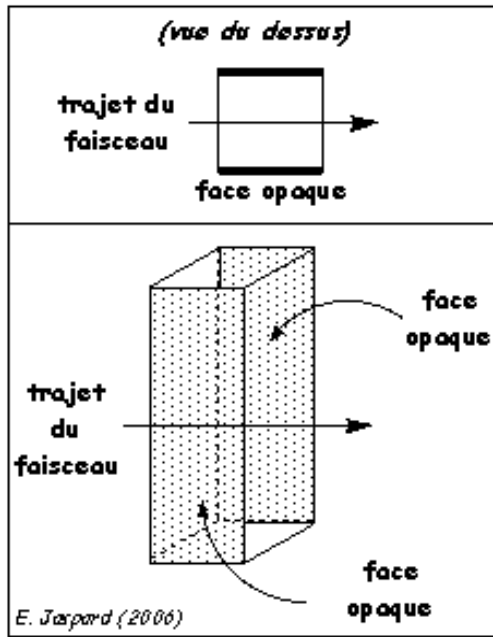


Figure 17: Differentes cuves.



Figure 18 :

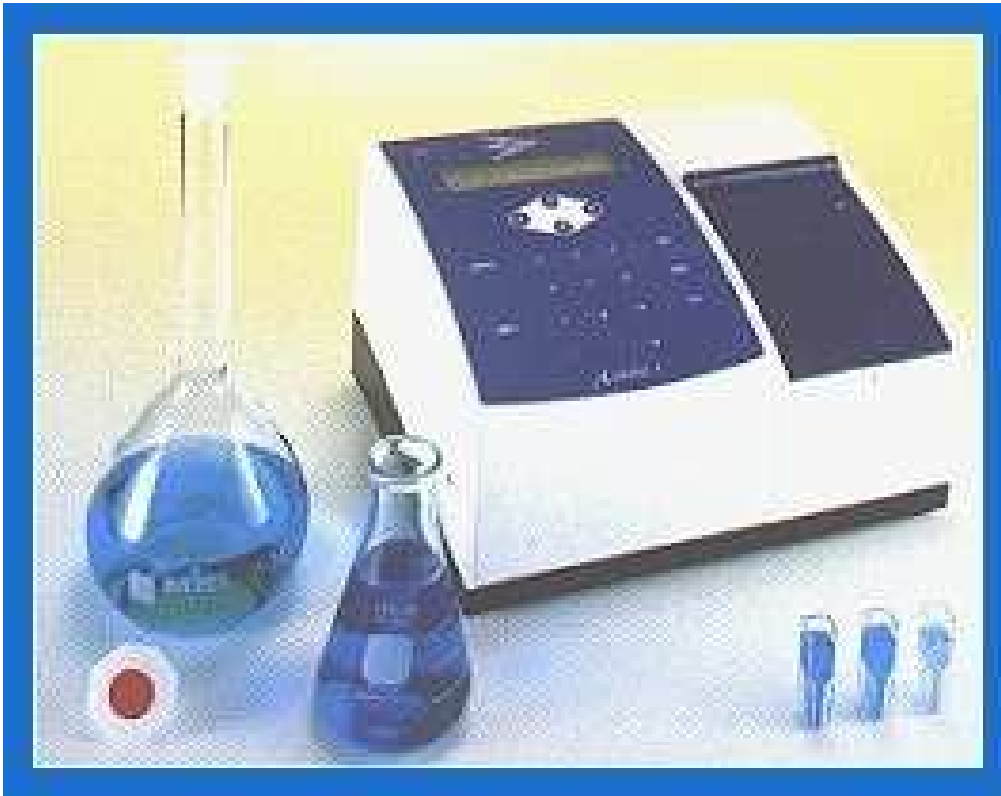
Centrifugeuse



(Jouan).

Figure 20 :

Bain marie (nive bath).



**Figure 21:**

Spectrophotomètre (Anadéo)

القطاع الصحي بورقلا

SECTEUR SANITAIRE DE OUARGLA  
LABORATOIRE INTERNE DE BIOLOGIE  
BIOCHIMIE II

Nom & Prénoms : .....  
Age : ..... Sexe : ..... Lit : ..... Du : .....  
Service : .....  
N° du prélèvement : .....  
Date : .....

VALEUR NORMALE

**TRANSAMINASE :**

GOT : ..... GTP ..... TGO 40/TGP 45

**BILIRUBINE :**

- TOTAL ..... CONJ. : ..... BT 10 BC 1 MG
- ACIDE URIQUE : ..... 20 A 70 MGLE
- FER SERIQUE : ..... 0.6 - 1.60 MGLE
- AMYLASEMIE : ..... 6 - 180 ISI 100 ML
- CHOLESTEROL : ..... 1.4 - 2.7 GLE
- LIPIDES : ..... 5 - 8 GLE
- PROTIDES : ..... 62 - 80 GLE
- PHOSPHATASES AL CALINES : ..... 21 - 92 UI/L
- PHOSPHATASES ACIDES : ..... 07 - 14 UI/L
- CALCIUM : ..... 70 - 115 MG/L
- CREATININE : ..... 8 - 12 MGLE
- POTASSIUM : ..... 3.4 - 4.5 MEGLE
- SODIUM : ..... 135 - 143 MEGLE
- TRIGLYCERIDES : ..... 0.40 - 1.65 GLE
- PHOSPHORE : .....
- AUTRES : .....

Laborantin

Le chef de service

القطاع الصحي بورقلا

SECTEUR SANITAIRE DE OUARGLA  
LABORATOIRE INTERNE DE BIOLOGIE  
BIOCHIMIE I

Nom & Prénoms : .....  
Age : ..... Sexe : ..... Lit : ..... Du : .....  
Service : .....  
N° du prélèvement : .....  
Date : .....

\* **GLYCEMIE :** G/L

\* **UREE :** G/L

\* **CREATININEMIE :** MG/L

\* **CHIMIE DES URINES :**

- Glucosurie :

- Albuminurie :

- Acétone :

- P.H :

- Sang :

Laborantin

Le chef de service