



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche scientifique



Université chahid cheikh Larbi Tébessi -Tébessa-

Faculté des Science Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Appliquée

MÉMOIRE

Présenté pour l'obtention du diplôme de Master Académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Science biologique

Spécialité : Toxicologie

Intitulé : effet du *Ginkgo biloba* sur les
altérations induites par le nitrite de sodium chez
le lapin

Présenté par :

Hamza Randa

Mahrez Yousra

Devant le jury composé de :

Dr. Zeghib Assia	M. C. A	Université de Tébessa	Présidente
Mme. Messaadia Amira	M. C. B	Université de Tébessa	Examinatrice
Mme. BELGUENDOZ. K	M. A. A	Université de Tébessa	Rapporteur

Présenté et soutenu publiquement : le 05/06/2024

Promotion :2023/2024



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ
مَكْتَبَةُ
۱۴۲۰





Remerciements

*On remercie dieu le tout puissant de nous avoir donné la santé et
La volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.*

*Tout d'abord, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu avoir
Le jour sans l'aide et l'encadrement de madame **BELGUENDOZ. K**
On la remercie pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour
Sa patience, sa rigueur et sa disponibilité durant notre préparation
De ce mémoire.*

*Nous remercions les membres du jury : **Dr. Zeghib. A** et
Mme. Messaadia A pour l'intérêt et le temps qu'ils ont consacré à juger ce
mémoire.*

*Nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes
Qui nous ont aidés et soutenus de près ou de loin*





Dédicace

Avec joie et plaisir, fierté et respect, je dédie ce

Modeste travail à ma grande famille

À mes parents pour leur soutien infatigable, leur patience admirable

Et leur affection continuelle, qui m'a beaucoup aidé dans ma vie et

Durant mes études.

À ma sœur Amina et mon frère Abd El Hamid

Pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.

Aux bourgeons de la famille.

*À mon binôme MAHREZ Yousra qui m'encouragée pour terminer ce
travail.*

À tous mes amis Lina, Soulef, Ahlem, ...

Et a toutes les personnes qui méritent mon Respect.



Dédicace

Avec joie et plaisir, fierté et respect, je dédie ce

Modeste travail à ma grande famille

À mes parents pour leur soutien infatigable, leur patience admirable

Et leur affection continuelle, qui m'a beaucoup aidé dans ma vie et

Durant mes études.

À mes frères Oussama et Ghaithe El Rahmene

Pour vous exprimer toute mon affection et ma tendresse.

Aux bourgeons de la famille.

à mon binôme HAMZA Randa qui m'encouragée pour terminer ce travail.

À tous mes amis Ahlem, Zina ...

Et a toutes les personnes qui méritent mon Respect.

Résumé

Les nitrites sont des molécules ubiquitaires trouvés dans notre environnement à normalement faibles concentrations mais peuvent devenir toxique à fortes concentrations et induire plusieurs altérations aux individus.

Notre étude vise à évaluer les effets de l'extrait standardisé de *Ginkgo biloba* à la dose de 20 mg/kg sur les dommages induits par le nitrite de sodium à une dose de 100 mg/kg chez les lapins Néozélandais, les lapins sont répartis en 3 lots à savoir lot témoin, lot traité par le NaNO₂ pendant 7 semaines et un lot traité par l'EGB 761 pendant deux et trois semaines après une prise de NaNO₂ pendant 7 semaines. Pour évaluer le but de notre travail, nous avons réalisé des analyses biochimiques et hématologiques.

Nos résultats montrent que la fonction hépatique et rénale sont affectées sous l'action de nitrite de sodium, ceci est traduit par l'augmentation des paramètres hématologiques et biochimiques, après l'administration de l'EGB 761 en constate une amélioration de l'ensemble de ces paramètres.

Les mots clés : le nitrite de sodium, l'extrait standardisé de *Ginkgo biloba*, lapins Néozélandais, la fonction rénale et hépatique, les analyses biochimiques et hématologiques.

Abstract

Nitrites are ubiquitous molecules found in our environment at normally low concentrations, but can become toxic at high concentrations and induce several alterations in individuals.

Our study aims to evaluate the effects of standardized Ginkgo biloba extract at a dose of 20 mg/kg on the damage induced by sodium nitrite at a dose of 100 mg/kg in New Zealand rabbits. The rabbits are divided into 3 batches: a control batch, a batch treated with NaNO₂ for 7 weeks and a batch treated with EGb 761 for two and three weeks after taking NaNO₂ for 7 weeks. Biochemical and haematological analyses were carried out to assess the purpose of our work.

Our results show that hepatic and renal function are affected by the action of sodium nitrite, as evidenced by the increase in hematological and biochemical parameters. After administration of EGb 761, we observed an improvement in all these parameters.

Key words: sodium nitrite, standardized Ginkgo biloba extract, New Zealand rabbits, kidney and liver function, biochemical and hematological analyses.

ملخص

تعد النيتريت جزيئات موجودة في كل مكان في بيئتنا بتركيزات منخفضة عادة، ولكنها قد تصبح سامة بتركيزات عالية وتؤدي إلى حدوث العديد من التغيرات لدى الأفراد.

كان الهدف من دراستنا هو تقييم تأثيرات مستخلص الجنكة بيلوبا المعياري بجرعة 20 مجم/كجم على الضرر الذي يسببه نيتريت الصوديوم بجرعة 100 مجم/كجم في أرانب نيوزيلندا، حيث تم تقسيم الأرانب إلى 3 دفعات: دفعة مراقبة ودفعة عولجت بالنيتريت الصوديوم لمدة 7 أسابيع ودفعة عولجت بالنيتريت الصوديوم لمدة أسبوعين وثلاثة أسابيع بعد تناول النيتريت الصوديوم لمدة 7 أسابيع. ولتقييم الغرض من عملنا، أجرينا تحاليل كيميائية حيوية وتحاليل دموية.

أظهرت نتائجنا أن الوظائف الكبدية والكلى تتأثر بتأثير نترت الصوديوم، وهو ما ينعكس في الزيادة في البارامترات الدموية والكيميائية الحيوية. بعد تناول إي جي بي 761، لاحظنا تحسناً في جميع هذه البارامترات.

الكلمات المفتاحية: نترت الصوديوم، المستخلص المعياري للجنكة بيلوبا، أرانب نيوزيلندا، وظائف الكلى والكبد، التحاليل الكيميائية الحيوية والكيميائية الحيوية وتحاليل الدم.

Liste des matières

- ❖ Remercîment
- ❖ Dédicace
- ❖ Résumé
- ❖ Abstract
- ❖ ملخص
- ❖ Liste des matières
- ❖ Liste des tableaux
- ❖ Liste des figures
- ❖ Liste des abréviations
- ❖ Introduction

Partie 01 : synthèse bibliographique

Chapitre 01 : les nitrites

I. Le monoxyde d'azote	04
1. Définition de NO	04
2. Les sources de NO	04
2.1. Les sources de NO endogènes	04
2.2. Les sources de NO exogènes	05
2.2.1. Sources naturelles (cycle de l'azote).....	06
2.2.2. Sources anthropiques	07
3. Rôle physiologique de NO	07
4. La réactivité de NO	08
II. Le nitrite de sodium	09
1. Définition du nitrite	09
2. Propriétés physico-chimiques	09
2.1. Propriétés physiques du nitrite de sodium	09
2.2. Propriétés chimiques du nitrite de sodium.....	10
3. Utilisation.....	10
4. La toxicocinétique (ADME)	10
4.1. Absorption	10
4.2. Distribution	10
4.3. Métabolisme.....	11
4.4. Elimination.....	11
5. La toxicité et les altérations causées par le nitrite el leurs métabolites.....	12

Chapitre 02 : *Ginkgo biloba*

1. Définition.....	15
2. Classification.....	15
2.1. Nom commun	15
2.2. Nom botanique.....	16
3. Description botanique de <i>Ginkgo biloba</i>	16
3.1. Les sources mâles et femelles	16

3.2. Les feuilles.....	16
3.3. Les fleurs.....	17
3.4. L'écorce	18
3.5. Les fruits	18
4. Les éléments actifs.....	19
4.1. Flavonoides	19
4.2. Trilcatones terpeniques	20
4.3. Acides <i>Ginkgoliques</i>	21
4.4. <i>Ginkgotoxines</i>	22
5. Pharmacologie	22
5.1. Mécanisme d'action de <i>Ginkgo biloba</i>	22
5.2. Les effets de <i>Ginkgo biloba</i>	22

Partie 02 : matériel et méthode

I. Matériel	26
1. Matériel biologique	26
2. Produit chimique.....	26
II. Méthode.....	27
1. Description d'élevage	27
2. Mode de traitement.....	27
3. Prélèvement sanguin	27
4. Mesure des poids et sacrifice des animaux	28
5. Analyses des paramètres biochimiques et hématologiques.....	27
5.1. Analyses des paramètres hématologiques.....	27
5.2. Analyses des paramètres biochimiques	27
5.3. Analyses statistiques des résultats	27

Partie 03 : Résultats et discussion

I. Résultats	29
1. Variations du poids corporel et du poids des organes des lapins en fonction du traitement et du temps	29
1.1. Suivi du poids corporel	29
1.2. Suivi du poids des organes.....	30
2. Evolution des paramètres biochimiques en fonction du traitement et du temps	31
2.1. La fonction hépatique	31
2.2. La fonction rénale	37
3. Evolution des paramètres hématologiques en fonction du traitement et du temps	41
3.1. Analyses des marqueurs de l'inflammation.....	41
II. Discussion.....	48

Conclusion

Références

Annexes

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
1	Les principales isoformes de NO Synthases	6
2	Les propriétés physiques de nitrite de sodium	9
3	Les symptômes de méthémoglobine	12

Liste des figures

Figure	Titre	Page
1	La biosynthèse de NO.	5
2	La toxicocinétique des nitrites.	11
3	<i>Ginkgo biloba</i> .	15
4	Les feuilles de <i>Ginkgo biloba</i> .	17
5	Les fleurs de <i>Ginkgo biloba</i> .	17
6	L'écorce de la tige de <i>Ginkgo biloba</i> .	18
7	Les fruits de <i>Ginkgo biloba</i> .	18
8	Structure chimique du flavonoïde.	17
9	Structure chimique du Ginkgolide.	20
10	Structure chimique du Bilobalide.	20
11	Structure chimique de l'Acide ginkgolique.	21
12	Structure chimique de Ginkgotoxine.	21
13	Lapin de race néo-zélandais.	25
14	Nitrite de sodium.	25
15	Tanakan.	25
16	Variation des poids corporels des lapins après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO ₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGB 761.	29
17	Variation du poids d'organes des lapins après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO ₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGB 761.	31
18	Variation du teneur plasmatique de TGO après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO ₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGB 761, par rapport aux témoins.	32
19	Variation du teneur plasmatique de TGP après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO ₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGB 761, par rapport aux témoins.	33
20	Variation du teneur plasmatique de GGT après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO ₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGB 761, par rapport aux témoins.	34
21	Variation du teneur plasmatique de PAL après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO ₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGB 761, par rapport aux témoins.	35

22	Variation du teneur plasmatique de bilirubine total après 2semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO ₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGB 761, par rapport aux témoins.	36
23	Variation du teneur plasmatique de bilirubine directe après 2semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO ₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGB 761, par rapport aux témoins.	37
24	Variation du teneur plasmatique d'urée après 2semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO ₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGB 761, par rapport aux témoins.	38
25	Variation du teneur plasmatique de créatinine après 2semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO ₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGB 761, par rapport aux témoins.	39
26	Variation du teneur plasmatique de LDH, Cholestérol total, Protides total, Albumine et acide urique après 2semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO ₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGB 761, par rapport aux témoins.	41
27	Variation du teneur plasmatique des GB après 2semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO ₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGB 761, par rapport aux témoins.	42
28	Variation du teneur plasmatique des Lymphocytes après 2semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO ₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGB 761, par rapport aux témoins.	43
29	Variation du teneur plasmatique des monocytes, granulocytes, GR, HB, HT, VGM, CCMH, TGMH, IDR, PLA, VMP, THT, IDP après 2semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO ₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGB 761, par rapport aux témoins.	47

Liste d'abréviations

°C : Degré Celsius

4-AF : 4-Aminophénazone

ADME : Absorption, Distribution, Métabolisme, Élimination

ATP : Adénosine Triphosphate

BH₄ : Tétrahydrobioptérine

CCL₄ : Tétrachlorure de carbone

CCMH : Concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine

CO₂ : Dioxyde de Carbon

DCPS : Diclorophénolsulphonate

DMSO : Diméthylsulfoxyde

EDTA : Acide éthylène diamine tétra acétique

EGb 761 : Extrait de *Ginkgo Biloba* 761

eNOS: Endothelial nitric oxyde Synthase

FAD : Flavine-adénine dinucléotide

Fe₂⁺ : Fer ferreux

Fe₃⁺ : Fer ferrique

FMN : Flavine mononucléotide

FNS : Formule- Numération sanguine

GGT : Gamma glutamyl transférase

GLDH : Duglutamate déshydrogénase

GMP : Guanosine monophosphate

H⁺ : Ion d'hydrogène

H₂O : Eau

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

H₃O⁺ : Ion hydronium

Hb : Hémoglobine

HNO : Monoxyde d'azote hydrogéné

HT : Hématocrite

IDP : Indice de distribution plaquettaire

IDR : Indice de distribution des globules rouges

IL-6 : Interleukine 6

iNOS : Inductible nitric oxide Synthases

INSPQ : Institut national de santé publique du Québec

KDa : kilodalton

LDH : Lactate Deshydrogénase

LMC : Leucémie myéloïde chronique

Mg/kg : Milligramme par kilogramme

N°CAS : Le numéro CAS (Chemical Abstracts Service)

N₂ : L'azote moléculaire

N₂O₃ : Trioxyde d'azote

NAD⁺ : Nicotinamide adénine dinucléotide

NADH : Nicotinamide adénine dinucléotide réduit

NADPH : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate Hydrogène

NaNO₂ : Nitrite de sodium

NH₃ : Ammoniaque

NH₄ : Ammonium

nNOS: Neuronal Nitric oxide Synthase

NO : Monoxyde d'azote ou oxyde nitrique

NO₂: Dioxyde d'azote

NO₂⁻: Ion nitrite

NOS : Nitric oxide synthase

O₂ : Dioxygène

ONOO : Peroxynitrite

PAL : Phosphatase alcaline

PLA : Plaquettes

pNPP: P-nitrophénylphosphate

POD : Peroxydase

ROS : Radicaux libres de l'oxygène

SNC : Système Nerveux Central

TGMH : Teneur globulaire moyenne en hémoglobine

TGO : Transaminase glutamo-oxaloacétique

TGP : Transaminase glutamo-pyruvique

THT : Thrombocyte

TNF- α : Facteur de nécrose tumorale alpha

TTL : Terpène Trilactones

VGM : Volume globulaire moyen

VIH: Immunodéficiência humaine

VPM : Volume plaquettaire moyen



Introduction

Introduction

Les nitrites et les nitrates sont des composés chimiques naturels, font partie du cycle de l'azote. Les plantes les consomment sous forme de nitrates, néanmoins, la présence de ces ions dans l'environnement peut entraîner des dangers pour la santé humaine (**Idrissi, 2006**).

La principale utilisation du nitrate est en tant que fertilisant inorganique comme il est nécessaire à la croissance des plantes, Il est également largement employé en tant qu'agent oxydant (synthèse de dérivés nitrés, d'oxyde nitreux, de ciments spéciaux), pour la coagulation des latex, dans le domaine nucléaire, dans la production d'explosifs, dans l'industrie du verre et dans l'industrie alimentaire comme colorant et agent de conservation, principalement sous forme de nitrate de potassium ou de sodium. Les nitrites sont principalement utilisés en tant que colorant et agent de conservation des aliments (les viandes et leurs dérivés), où le nitrite de sodium est ajouté non seulement pour la saveur, mais aussi pour préserver le goût et la couleur rouge de l'hémoglobine, dans le domaine de la fabrication des teintures et du caoutchouc, ainsi que dans les secteurs textile et photographique. Ils jouent également un rôle d'inhibiteur de corrosion et d'antidote en cas d'intoxication au cyanure. Dans le domaine industriel, ils servent à convertir des amines en sels de diazonium (des colorants spécifiques). Le nitrite de sodium est considéré, à fortes concentrations, comme un composant toxique, peut provoquer des effets néfastes tels que la méthémoglobinémie, le cancer, des aberrations chromosomiques dans la moelle osseuse et des mutations ainsi que l'avortement spontané (lors d'une exposition pré ou post-natale) (**Bonnard et al., 2021**). Des travaux antécédents ont montré que le nitrite provoque des atteints hépatiques (**Helal, 2001**) ainsi que une altération au niveau des cellules rénal et ceci serait attribué à une libération excessives des radicaux libres (**Mongi et al., 2011**).

Le *Ginkgo biloba* est une plante médicinale chinoise dont l'extrait est obtenu à partir de ses feuilles (**Cadet, 2017**). Ce dernier est composé de : flavonoïdes, trilactones terpéniques, les acides ginkgoliques, ginkgotoxines et d'autres composants ayant des effets physiologiques (**Ude et al., 2013**). Grâce à cette composition, le *Ginkgo biloba* possède des propriétés vasodilatatrices de la microcirculation, des propriétés neuroprotectrices ainsi que des propriétés anti-inflammatoires et antioxydantes (**Cadet, 2017**).

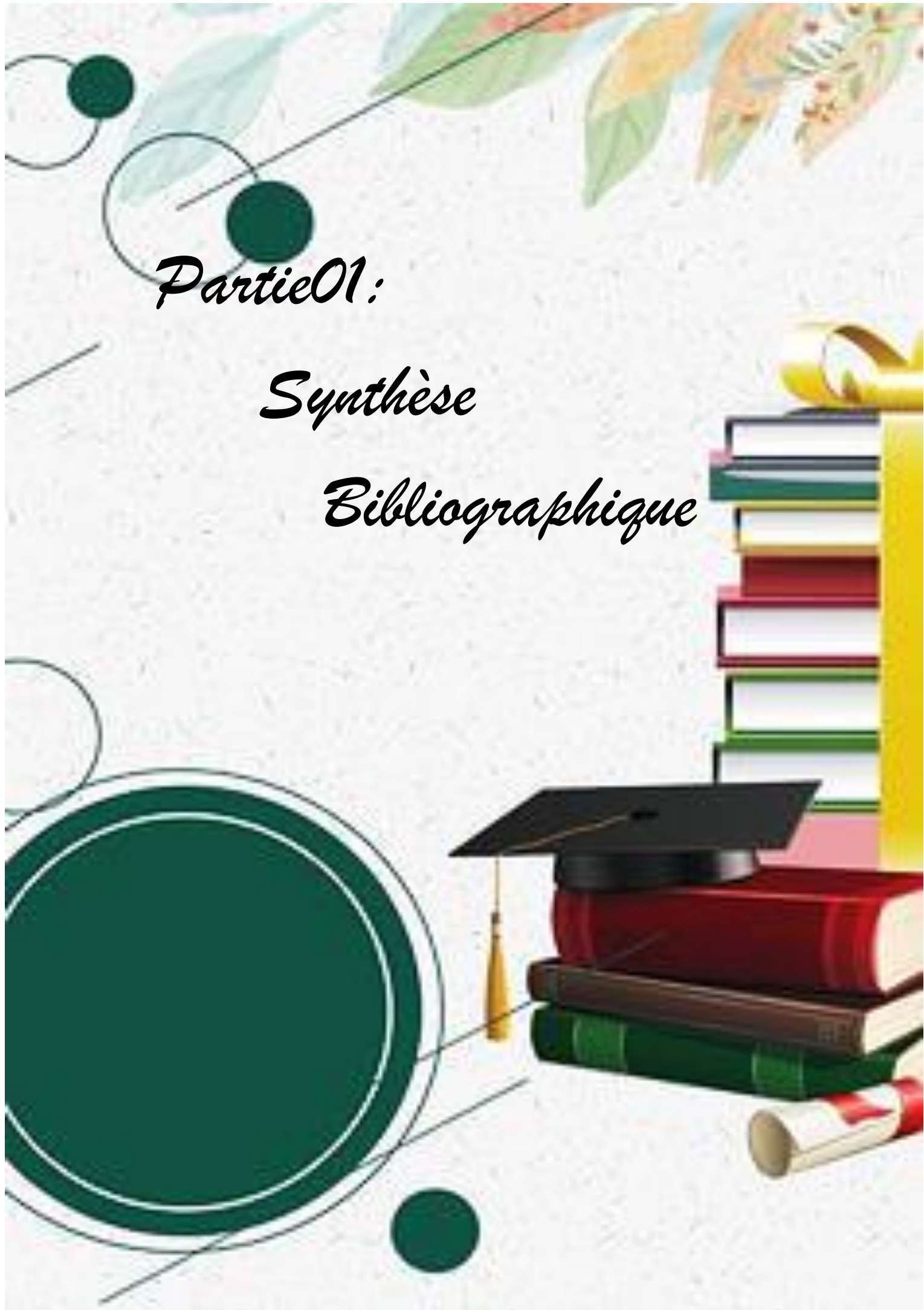
Pour cela, notre étude a été réalisée dans le but d'évaluer la capacité de l'extrait standardisé de *Ginkgo biloba* à améliorer les altérations induites par le nitrite de sodium chez un modèle animale qui est le lapin. Afin de réaliser notre étude, nous avons établi quelques objectifs à atteindre :

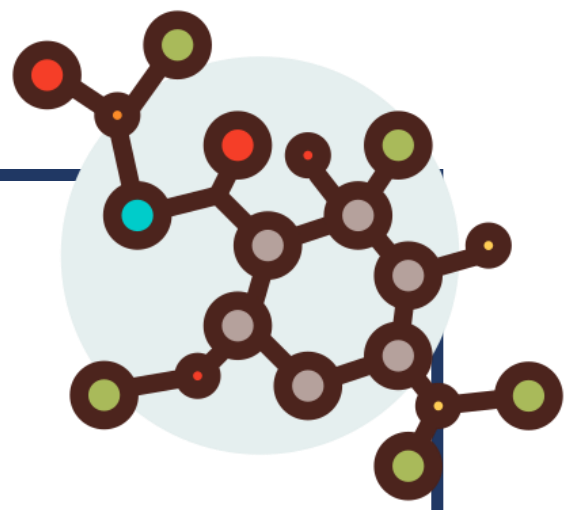
- L'effet de NaNO₂ sur les paramètres biochimiques et hématologiques.
- L'effet de l'EGb 761 sur les altérations provoquées par le NaNO₂.

Partie 01:

Synthèse

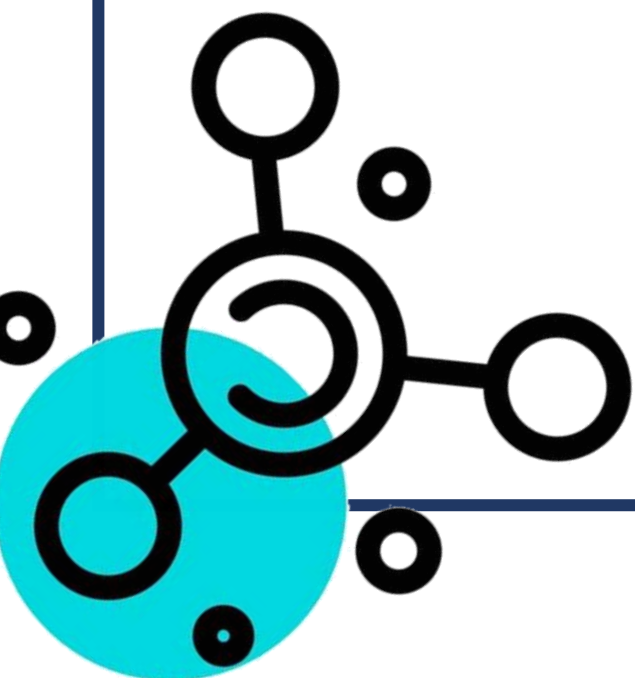
Bibliographique





Chapitre 1 :

Les nitrites



I. Le monoxyde d'azote :

1. Définition du NO :

L'oxyde nitrique (NO) est une molécule volatile, de faible poids moléculaire et hautement lipophile, diffuse facilement à travers les membranes cellulaires (**Chinbo et al., 2012**), dans les fluides biologiques et aussi dans les tissus (**Dumas, 2007**).

Notre corps est exposé à deux sources d'oxyde nitrique :

- Exogène, provenant de la pollution atmosphérique et de la fumée de cigarette (**Clerc, 2006**).
- Endogène, à partir de la L-arginine grâce aux NO-Synthases (**Mitra et Altit, 2023**).

Le NO est un composé diatomique (composé d'un atome d'azote et une atome d'oxygène), ayant une activité paracrine. Dans les milieux biologiques, sa demi-vie est estimée entre 1 et 5 secondes voire 30 secondes (**Sébastien et al., 2005**).

2. Les sources de NO :

2.1. Les sources de NO endogènes :

Le monoxyde d'azote constitue le premier gaz reconnu comme messager, il est synthétisé à partir d'une atome d'azote de la L-arginine et une atome d'oxygène. Cette réaction est générée par une famille d'enzymes appelées NO Synthases (**Philippe et al., 2000**).

La biosynthèse de NO nécessite un certain nombre de cofacteurs : NADPH, O₂, le noyau hème (protoporphyrine IX de fer), la tétrahydrobioptérine (BH₄), la flavine mononucléotide (FMN) et la flavine-adénine dinucléotide (FAD).

En présence de NADPH et d'oxygène, la L-arginine est hydroxylée en N-hydroxy-L-arginine, cet intermédiaire est oxydé en L-citrulline par la réduction de NADPH avec une libération de NO (**Clerc, 2006**). (Figure1)

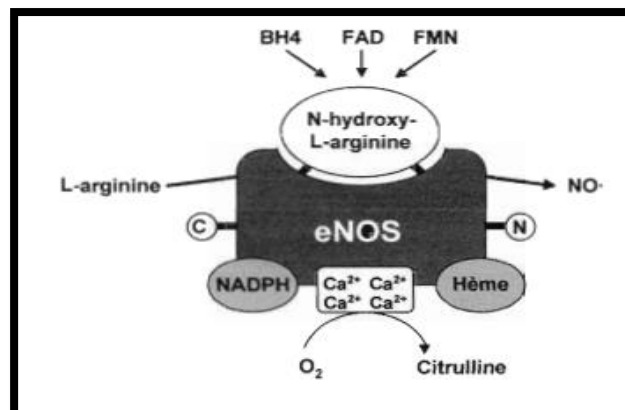


Figure 1: la biosynthèse de NO (Gagné, 2008)

Les isoformes de NOS :

Selon les types tissulaires, il existe trois isoformes de NO-Synthases provenant de trois types des gènes sont : Neuronal Nitric oxide Synthase nNOS ou (NOS 1) est exprimé dans le tissu neuronal, inducible nitric oxide Synthases iNOS ou (NOS 2) dans les macrophages immunoactivés et endothelial nitric oxyde Synthase eNOS ou (NOS 3) dans les cellules endothéliales (Gagné, 2008). (tableau 1)

Ces trois isoformes présentent de nombreuses similitudes qui sont :

- Elles utilisent le même substrat (L-arginine).
- Elles nécessitent les mêmes cofacteurs.
- Elles sont constituées de sites de fixation pour certains cofacteurs nécessaires pour le fonctionnement enzymatique.
- Elles forment des dimères enzymatiques.
- Elles présentent une certaine ressemblance avec le Cyt P450 (Clerc, 2006).

Tableau 1: les 3 principales isoformes de NO Synthases (Sabry et Dinh-xuan., 1996).

Les isoformes	Neuronale (nNOS)	Inductible (iNOS)	Endothéliale (eNOS)
Localisation chromosomique de gène	12q24.4	17cen-q12	7q35-36
Masse moléculaire de la protéine	150 kDa	130 kDa	135 kDa
Activité	Constitutive	Inductible	Constitutive
Fonction du NO	Neurotransmetteur	Bactéricide tumoricide	Vasodilatateur
Cofacteurs : Ca ⁺⁺ /calmoduline	Dépendante	Indépendante	Dépendante
Effecteurs membranaires	Acides aminés neuroexcitateurs	LPS, IL1, TNF α ...etc.	Acétylcholine, bradykinine...etc.

2.2. Les sources de NO exogène :

En général, les sources de nitrates dans l'eau sont les suivantes : les organismes animaux et végétaux en décomposition, les rejets animaux et humains (fosses septiques et égouts défectueux), les engrais inorganiques à base d'azote, l'épandage de boue et de fumier et les formations géologiques contenant des composés azotés solubles (Santé Canada 1987). Cependant, ces sources peuvent être classées selon leurs origines naturelle et anthropique.

2.2.1. Sources naturelles (cycle de l'azote) :

La production des nitrates dans le cycle d'azote est un processus naturel qui se déroule principalement dans le sol, ils se produisent suite de la nitrification de différentes formes d'azote contenues dans les matières premières. Ainsi, dans le cycle de l'azote, les micro-organismes (plantes, sol, eau) décomposent d'abord la fraction organique de l'azote NH₃ et de l'azote

moléculaire (N₂) au niveau du sol en ammonium (NH₄), qui se produit lors de la transformation initiale est à son tour oxydé successivement en nitrites puis en nitrates (**Chébékoué, 2008**).

2.2.2. Sources anthropiques :

Les nitrates se retrouvent dans l'environnement de façon naturelle mais de nombreuses activités humaines ont pour effet d'augmenter leur concentration dans l'eau et le sol (**Gaudreau et Mercier, 1997**).

- Les engrais épandus sur le sol lors d'activités agricoles et d'élevage intenses constituent les sources majeures de nitrates dans l'environnement (**Fields, 2004**).
- Traitement des eaux : les eaux usées domestiques et industrielles sont considérés la cause principale des nitrates (**Chébékoué, 2008**).
- Les nitrates sont, depuis longtemps, utilisés à faibles doses dans le domaine alimentaire comme adjuvants dans la préparation des salaisons (**Hamon, 2007**).

3. Rôle physiologique du NO :

Le NO agit dans l'organisme à travers diverses formes d'action :

Il est responsable de la régulation de la motricité et du tonus digestif, Un effet neurovégétatif similaire est retrouvé dans le contrôle de la ventilation pulmonaire.

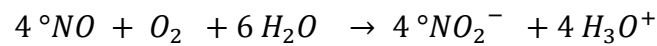
Le macrophage présente une action non spécifique sur les bactéries, les cellules cancéreuses et les parasites. Le macrophage produit du NO qui, lorsqu'il est injecté dans la cellule cible, entraîne la mort de la cellule étrangère.

Le NO a d'autres rôles dans la réaction immune. Il est messager intercellulaire entre le lymphocyte et le macrophage (**Bérard., 1997**).

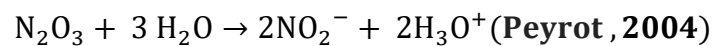
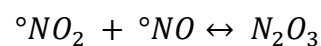
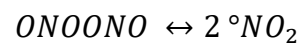
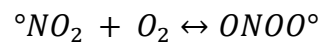
4. La réactivité de NO :

L'oxyde nitrique réagit rapidement avec l'oxygène moléculaire (O₂) et ses dérivés (des radicaux), pour former : **ONOO**, **N₂O₃**, **°NO₂**, **NO₂**

Le nitrite est un produit de réaction entre le NO et l'O₂ :



Cette réaction conduit à la formation des intermédiaires **ONOO°**, **N₂O₃**, **°NO₂**, **NO₂⁻**



Pour la formation du nitrite : la réaction entre le NO et le dioxygène (O₂) soit relativement lente aux concentrations physiologiques où le NO exerce sa fonction comme messenger, cette réaction peut devenir importante dans des conditions pathologiques où la production de NO est élevée. Elle est accélérée dans les tissus à forte concentration d'oxygène comme les poumons et les compartiments hydrophobes **(Peyrot, 2004)**.

II. Le nitrite de sodium :

1. Définition du nitrite :

Le nitrite est un composant essentiel dans les produits de salaison. Ils sont des ions présents naturellement dans l'environnement.

Il est un sous-produit du cycle d'azote, l'excès du nitrite interfère non seulement avec la croissance des bactéries, mais a également des effets nocifs sur la santé humaine et la vie aquatique (Nie et al., 2020).

2. Propriétés physico-chimiques :

2.1. Propriétés physiques du nitrite de sodium :

Le nitrite de sodium se présente sous la forme d'une poudre, de granulés ou de bâtonnets blancs ou légèrement jaunâtres, inodores, à saveur salée. Il se dissout facilement dans l'eau (85 g / 100 g d'eau). Le nitrite de sodium est faiblement soluble dans le méthanol (4,43 g de nitrite de sodium / 100 g de méthanol) (Bonnard et al., 2021). (Tableau 2)

Tableau 2 : les propriétés physiques de nitrite de sodium (Bonnard et al., 2021)

Nom Substance	Détails	
Nitrite de sodium	Formule	NaNO ₂
	N° CAS	7632-00-0
	État Physique	Solide
	Solubilité	85 g/100 mL
	Masse molaire	69
	Point de fusion	271 à 282 °C
	Densité	2,17
	Pression de vapeur	Négligeable

1.2. Propriétés chimiques du nitrite de sodium :

Le nitrite de sodium s'oxyde lentement en nitrate lorsqu'il est exposé à l'air. Il se décompose avec la chaleur (à 320 °C) et produit de l'azote, de l'oxygène et de l'oxyde d'azote.

Le nitrite de sodium est un agent oxydant fort qui peut réagir de façon explosive avec les acides, les cyanures et les sels d'ammonium.

Il est capable de se déclencher spontanément d'incendie en se combinant avec des matériaux organiques tels que le bois, le textile...

En présence d'amines secondaires ou tertiaires, le nitrite de sodium donne naissance à des nitrosamines, dont certaines sont suspectées d'être cancérogènes. Certains facteurs (pH, température, concentration...) peuvent augmenter le rendement de la réaction (**Bonnard et al., 2021**).

2. Utilisation :

- Les nitrites sont principalement utilisés dans l'industrie alimentaire comme un agent colorant et conservateur, c'est le cas de viande et dérivés salaisonnés ou du nitrite de sodium est utilisé aussi pour préserver la saveur et le couleur rouge d'hémoglobine, et surtout pour la prévention du Botulisme induit par les toxines produites par la bactérie *Clostridium botulinum* (**Chébékoué, 2008**).
- Les nitrites sont aussi utilisés comme antidote en cas d'empoisonnement par le cyanure (**Chébékoué, 2008**).
- En général, les effets directs du NO[•] sont considérés comme physiologiques (**Massion et al., 2002**). Le nitrite de sodium a été utilisée dans le domaine de la thérapeutique humaine en raison de son effet vasodilatateur (**Bonnard et al., 2021**).

3. La toxicocinétique (ADME) : (Figure 1)

3.1. Absorption :

Le nitrate et le nitrite proviennent soit par l'exposition orale, soit par la production endogène via la voie L-arginine-No. Lorsqu'ils proviennent de l'alimentation, ils sont rapidement et presque complètement absorbés (**Scippo et al., 2022**).

3.2. Distribution :

Le nitrite se pénètre dans le sang et oxydé par l'hémoglobine en nitrate, produisant de la méthémoglobine (Chébékoué, 2008).

3.3. Métabolisme (biotransformation) :

Dans l'organisme les nitrates et les nitrites participent à un échange dynamique, la conversion du nitrate en nitrite est principalement réalisée par des bactéries vivantes dans le tractus intestinal buccal. Après la conversion bactérienne du nitrate en nitrite le mélange nitrate / nitrite pénètre dans le tractus gastro-intestinal via la salive. Le nitrite se transforme facilement en espèces nitrosées dans les environnements acides (en particulier dans l'estomac). Par conséquent, le taux de conversion des nitrates après l'ingestion dépend non seulement de leur quantité ingérée, mais également de la quantité et du type de bactéries qui y vivent (Chébékoué, 2008).

Dans la circulation sanguine, le nitrite se transforme en nitrate après une réaction avec l'hémoglobine (Scippo et al., 2022).

3.4. Elimination :

Le nitrate est principalement excrété dans les urines (50 à 100 %) avec une demi-vie d'élimination de 5 à 13 heures (Scippo et al., 2022).

En revanche, les nitrites sont excrétés en très petites quantités dans les urines (presque 0.02 %) avec une demi-vie n'est que de 30 minutes (Scippo et al., 2022).

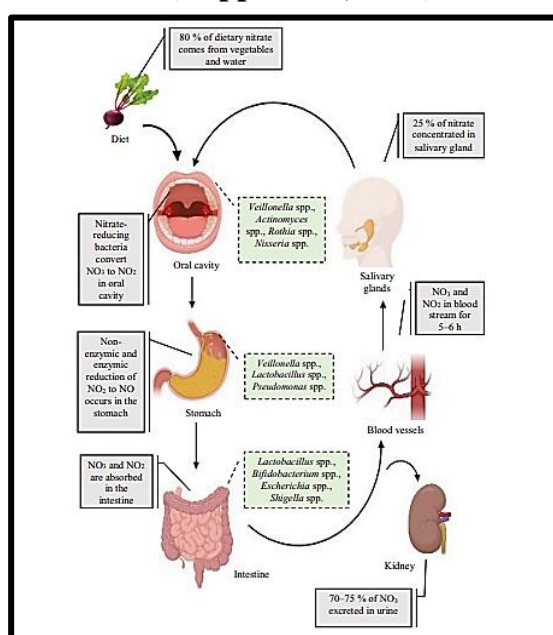


Figure 2: La toxicocinétique des nitrites (Alzahrani et al., 2021)

4. La toxicité et les altérations causées par le nitrite et leurs métabolites :

Le nitrite est une substance plus toxique comparativement au nitrate qui est relativement non toxique. Toutefois, le nitrate ingéré est susceptible d'être réduit en nitrite par les bactéries du tractus gastro-intestinal.

L'effet critique lié à l'ingestion directe du nitrite et/ou produit par conversion endogène du nitrate est la méthémoglobinémie (**Julie, 2009**).

Chez l'homme, la méthémoglobinémie est l'effet majeur et direct des nitrites vis-à-vis de l'hémoglobine. Au même titre que le sang, le foie et la rate sont parmi les organes les plus exposés à une telle toxicité (**Marzouki et al., 2000**). Elle causée par la capacité réduite du sang à transporter l'oxygène dans l'ensemble de l'organisme. Le nitrite ingéré est absorbé dans le système sanguin et réagit avec l'hémoglobine dans les érythrocytes pour former la méthémoglobine. Cette molécule résulte de l'oxydation du fer ferreux (Fe^{2+}) contenu dans la molécule d'hémoglobine en fer ferrique (Fe^{3+}), ce qui rend inopérant le transport de l'oxygène vers les tissus par l'hémoglobine (**Julie, 2009**). (tableau 2)

Tableau 1: Les Symptômes en fonction des taux de met hémoglobine (**Bellik et al., 2001**)

Méthémoglobine d'HB total (%)	
<15 %	Asymptomatique
15-20 %	Cyanose clinique, sang chocolat
20-45 %	Dyspnée, asthénie, vertige, céphalée syncope
45-55%	Dépression nerveuse centrale
55-70%	Coma, insuffisance circulatoire, troubles du rythme
>70 %	Décès possible

L'exposition de la mère aux nitrates et nitrites environnementaux pourrait augmenter les risques de complications lors de la grossesse tel que : avortements spontanés, déformations variées à la naissance, travail difficile, naissance prématurée, faible poids à la naissance, défaut du système nerveux central, malformations congénitales pouvant causer la mort et effets comportementaux (**Chébékoué, 2009**).

Le nitrite de sodium joue un rôle de promoteur de la cancérogenèse en favorisant la formation de tumeurs pré-estomacales chez les rats et les souris. Les sucs gastriques transforment le nitrite de sodium en HNO, qui se dimérise en NO, un intermédiaire réactif qui se lie aux amines et aux amides secondaires pour former N-nitroso cancérogènes (**Bonnard et al., 2021**).



Chapitre 2 :

Ginkgo biloba

1. Définition :

Le mot *Ginkgo* ou *Ginkgo* est une déformation du japonais Ginkyô qui signifie amande d'argent. Ginkyô est la transcription japonaise des caractères chinois yin-hing (de yin, argent ; et, hing abricot et par extension amande). L'expression populaire chinoise pai kouo (fruit blanc) se réfère plus précisément au fruit, c'est-à-dire à l'amande ou graine. Ya-kiao (pied de canard) compare la patte palmée du bipède à la feuille bilobée du Ginkgo.

L'arbre aux quarante écus est une espèce unique (*Ginkgo biloba L*) du genre (*Ginkgoaceae*). Le *Ginkgo biloba* se présente comme un bel arbre à feuilles persistantes et pétiolées séparées en deux lobes par une échancrure médiane. Il fut introduit en France en 1754 et réussit bien dans les régions tempérées. Le *Ginkgo biloba* produit des fleurs mâles et des fleurs femelles (**Wong , 1971**). (Figure 3)



Figure 3: *Ginkgo biloba* (Mullaicharam, 2013)

2. Classification :

2.1. Nom commun :

Comme de nombreux autres végétaux, le *Ginkgo biloba* peut être appelé de diverses manières, telles que l'arbre aux quarante écus ou l'arbre aux mille écus. Ce nom tire son inspiration de la teinte jaune vif que ses feuilles adopteront à l'arrivée de l'automne, puis lorsqu'elles tombent, elles créent un tapis jaune d'or à son pied. De manière plus spécifique, il peut être appelé le noyer du Japon, l'abricotier d'argent ou encore le diminutif de *ginkgo*.

2.2. Nom botanique :

Cette plante appartient :

La classe : Gymnospermes

L'ordre : Ginkgoales A

La famille : Ginkgoaceae

Genre : *Ginkgo*

Espèce : *Ginkgo biloba*

On peut noter que le *Ginkgo biloba* est l'unique représentant de son ordre, de son genre et de la famille des Ginkgoaceae (Cadet, 2017).

3. Description botanique de *Ginkgo biloba* :

Le *Ginkgo biloba* est le seul arbre de la famille des Ginkgoaceae qui peut atteindre une hauteur de 30 à 40 mètres. Cette espèce est dioïque, ce qui signifie qu'il existe une distinction entre le *ginkgo* femelle (plus trapu et plus large, avec des gros ovules à pulpe orange) et le *ginkgo* mâle (Mingeon, 2014).

3.1. Les souches mâles et femelles :

L'espèce de *Ginkgo* est dioïque, donc il y a des souches mâles et des souches femelles.

L'inflorescence mâle apparaît sous forme de chatons cylindriques renferment les sacs polliniques et favorisent la reproduction. Il est possible de reconnaître l'inflorescence femelle, qui contient deux petits ovules libres, ovales et jaunes/verts. Lorsque la fécondation se produit, l'ovule se transforme en une drupe et dégage une odeur désagréable.

Il est difficile de distinguer les plans femelles des plantes mâles lorsqu'ils sont jeunes, ce qui rend difficile de prédire quel adulte nous obtiendrons avant la floraison. Avant d'obtenir les fleurs, il est nécessaire d'attendre vingt à trente ans (Cadet, 2017).

3.2. Les feuilles :

Les feuilles vertes du *ginkgo* sont caractéristiques et facilitent la détection de cet arbre. Les feuilles bilobées sont en forme d'éventail et se composent de deux lobes, ce qui leur donne le nom d'espèce biloba. Le point de départ des minces nervures parallèles qui parcourent la feuille est le long pétiole, sans nervure centrale et peut mesurer entre dix et quinze centimètres de long. Elles sont dépassées et prennent une teinte jaune d'or éclatante en automne (Cadet, 2017). (Figure 4)



Figure 4: Les feuilles de *Ginkgo biloba* (site 1)

3.3. Les fleurs :

Les fleurs sont unisexuées. Les mâles, de petite taille, se regroupent en inflorescences. Les fleurs femelles se composent d'un ou deux ovules nus. (Figure 5)



Figure 5 : Les fleurs de *Ginkgo biloba* (site 1)

3.4. L'écorce :

Au fil du temps, l'écorce évolue, passant du brun au gris, passant de la lisse au fendillé puis devenant sinueuse (Cadet, 2017). (Figure 6)



Figure 6 : l'écorce de la tige de *Ginkgo biloba* (site 1)

3.5. Les fruits :

Les "fruits" ont une odeur désagréable d'acides butyriques et propioniques. En réalité, il s'agit de drupes charnues produites par la fécondation d'un ovule : ils ne sont portés que par les arbres femelles (Mingeon, 2014). (Figure 7)



Figure 7 : Les fruits de *Ginkgo biloba* (site 1)

4. Les éléments actifs :

Le *Ginkgo biloba* contient différents composants tels que flavonoïdes, trilactones terpéniques, les acides ginkgoliques, ginkgotoxines et d'autres composants (Ude et al., 2013).

4.1. Flavonoïdes :

Les flavonoïdes font partie d'une vaste famille de composés polyphénoliques qui se trouvent dans toutes les plantes et sont donc ingérés par les êtres humains et les animaux dans leur alimentation quotidienne. (Van Beek et Montoro, 2009). On retrouve plus de 30 flavonoïdes authentiques sont connus dans *Ginkgo biloba*. La diversité des différents flavonoïdes ne résulte pas de la variabilité du cadre de 2-phénylchromane, mais des différents glycosides trouvés dans *Ginkgo biloba*. La fraction glucidique se compose de glucosepties et/ou de rhamnose dans divers mono, di- ou triglycosides avec différents modèles de liaison (Singh et al., 2008).

Les flavonoïdes ont été démontrés dans les études précliniques comme des antioxydants puissants et des récupérateurs radicaux, ce qui a conduit à une réduction des niveaux de tissus des espèces réactives d'oxygène (ROS) et à l'inhibition de l'oxydation des lipides membranaires (Wurglics et Schubert-Zsilavec, 2006). (Figure 8)

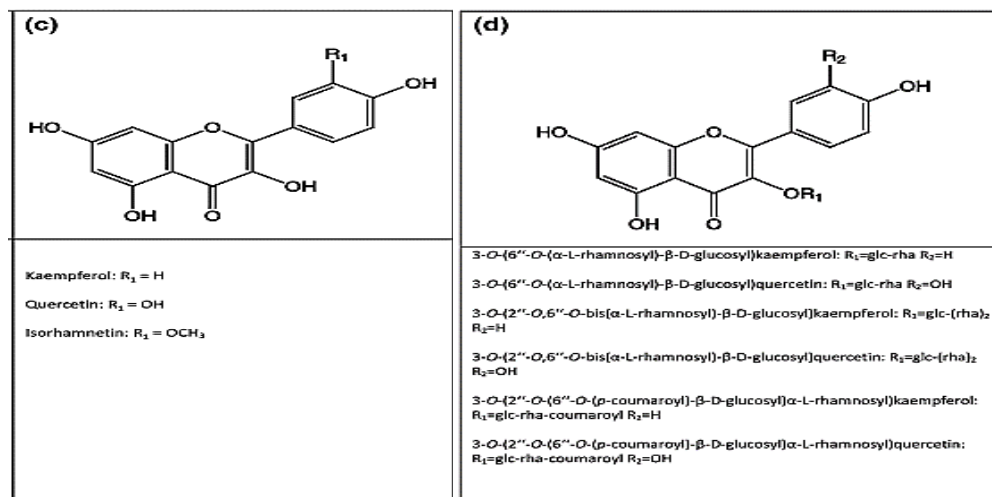


Figure 8 : Structure chimique du flavonoïde (Ude et al., 2013).

4.2. Trilactones terpéniques :

La catégorie des composés Terpène Trilactones est extrêmement rare dans le domaine des plantes ; jusqu'à présent, il n'a été découvert qu'à *Ginkgo biloba*. Les diterpènes C₂₀, les ginkgolides (Figure 9), se composent de six anneaux à cinq chaînons, à savoir un anneau carbocycliquespiro [4,4] nonane, trois lactones et un tétrahydrofurane, tandis que le Bilobalide (Figure 10) est un sesquiterpène. Ce sont les seules substances naturelles identifiées qui contiennent un groupe tert-butyle.

Il a été démontré que EGb 761 protège les mitochondries contre les dommages et améliore la fonction mitochondriale et le métabolisme énergétique ; cette action est principalement due aux Ginkgolides et Bilobalides. Le Bilobalide permet aux mitochondries de maintenir leur activité respiratoire dans des conditions ischémiques, ce qui retarde le début des dommages induits par l'ischémie. De plus, Bilobalide a un effet protecteur sur la teneur en ATP cellulaire (Ude et al., 2013).

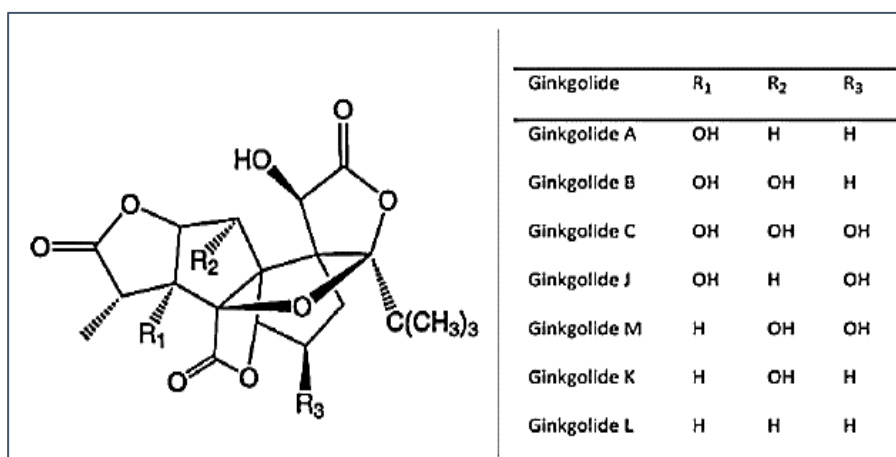


Figure 9 : Structure chimique du Ginkgolide (Ude et al., 2013)

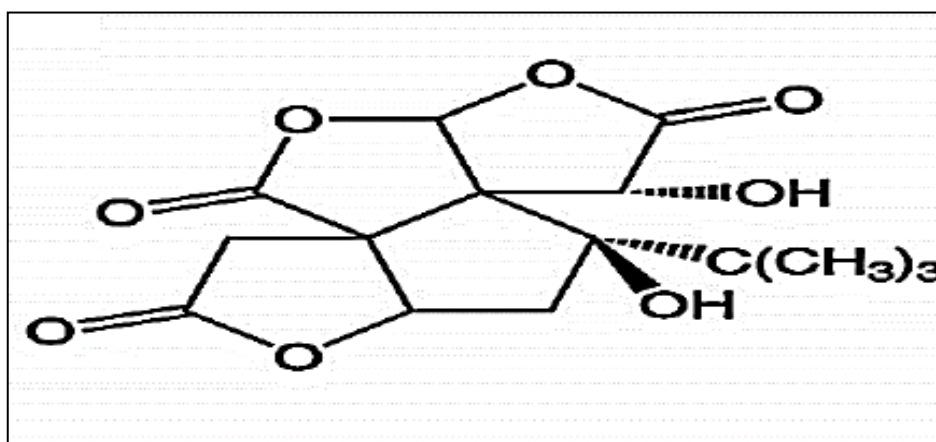


Figure 10 : Structure chimique du Bilobalide (Ude et al., 2013)

4.3. Acides ginkgoliques :

Les acides ginkgoliques sont une combinaison de composés d'acides phénoliques n-alkylés provenant du *Ginkgo biloba*, qui présentent une structure similaire. Ces acides sont des allergènes puissants capables de susciter des réactions allergiques sévères. Outre leur caractère allergique, ils ont des caractéristiques cytotoxiques, mutagènes, cancérigènes et génotoxiques (Ude et al., 2013).

(Figure 11)

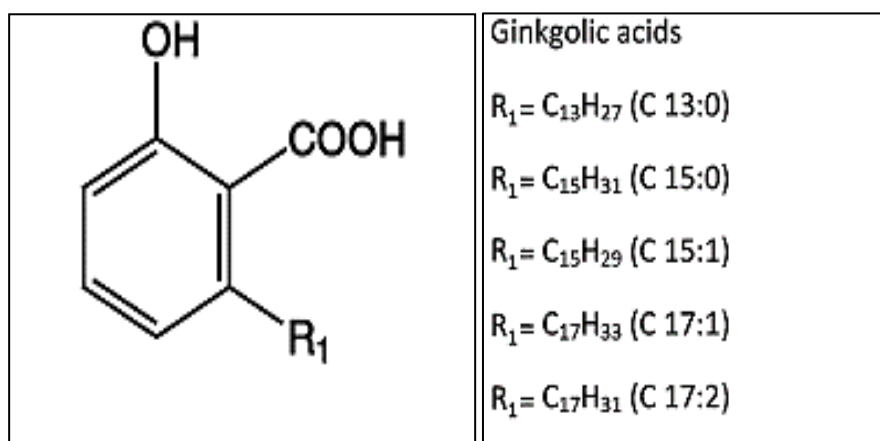


Figure 11 : Structure chimique de l'Acide ginkgolique (Ude et al., 2013)

4.4. Ginkgotoxines :

Les ginkgotoxines sont tenues pour responsables d'effets secondaires tels que les crises épileptiformes et des paralysies des jambes. Il faut toutefois garder à l'esprit que les ginkgotoxines se trouvent principalement dans les graines de *Ginkgo biloba* et non dans les feuilles qui sont utilisées pour la production de EGb. Les données publiées indiquent que aucun effet toxique n'est attendu après une application de EGb à la dose recommandée (Ude et al., 2013). (Figure 12)

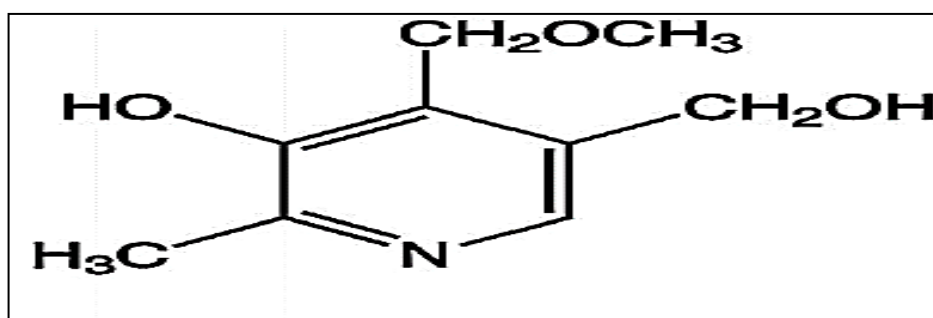


Figure 12 : Structure chimique de Ginkgotoxine (Ude et al., 2013)

5. Pharmacologie :

5.1. Mécanisme d'action de *Ginkgo biloba* :

L'extrait de *ginkgo biloba* intervenir dans la relaxation d'endothélium en inhibant le 3'5'-cyclique GMP (guanosine monophosphate) phosphodiesterase, la perte liée à l'âge de cholinoccepteurs muscanergiques, α -adrénnergiques et inhibe aussi la déposition de β -amyloïd. En revanche, il stimule la pénétration de choline dans l'hippocampe (Sierpina et al., 2003).

5.2. Les effets de *Ginkgo biloba* :

❖ L'amélioration de la circulation sanguine :

L'extrait de *Ginkgo biloba* peut améliorer la circulation sanguine en augmentant la déformabilité, en réduisant l'agrégation et améliorer la fluidité des globules rouges et en réduisant la viscosité du sang total.

❖ Les effets anti-inflammatoires :

L'administration d'extrait de *Ginkgo biloba* réduit l'agrégation des plaquettes, les réactions allergiques, les réponses inflammatoires, la libération des radicaux oxygénés et d'autres fonctions pro-inflammatoires des cellules macrophages.

Les flavonoïdes contenus dans l'extrait de *Ginkgo biloba* inhibent la cyclo-oxygénase responsable de la production de du thromboxane A₂ qui est un puissant agrégateur des plaquettes, et la lipoxigénase impliquée dans la formation des leucotriènes et les molécules associées à l'acide arachidonique.

❖ Anti-anxiété :

Le stress provoque une élévation des concentrations circulantes epinephrine, norepinephrine et corticostérone. L'EGb 761 a diminué significativement les concentrations plasmatiques de ces hormone, l'hormone adrenocorticotrophic, ainsi que la concentration sanguine porte hypotensives , l'EGb761 augmente la concentration cérébrale de sérotonine et autre amines biogènes.

❖ Activité Anti tumorale :

L'extrait de *Ginkgo biloba* absorbé (100mg / kg) avant l'irradiation de fibrosarcome améliore la radiosensibilité des cellules tumorales (la croissance des tumeurs est retardée) et aucune augmentation des dommages induites par les radiations sur les cellules normaux, donc l'EGb761 a un effet chimio préventif bénéfique contre les carcinogènes.

❖ Effet antioxydant :

Les composants de l'EGb761 jouent un rôle très important dans la protection contre les radicaux libres, les facteurs clastogènes dans le plasma des individus irradiés accidentellement ou thérapeutiquement sont supprimés par l'EGb761, la prolifération stimulée la sérotonine des cellules musculaires lisses (médiée par l'augmentation des radicaux oxygénés) et des fibroblastes des poumons sont bloqués par l'EGb501.

Les terpènes (à l'exception du Ginkgolides A piègent le superoxyde O_2^- , les flavonoïdes piègent aussi les O_2^- et les radicaux hydroxyles. L'extrait de *Ginkgo biloba* appliqué localement induit une activation de l'enzyme superoxyde dismutase et catalase d'une façon local dans l'épiderme et systématiquement dans le cœur, le foie et les reins. L'EGb 761 inhibe ou diminue les altérations morphologiques et fonctionnelles due à la libération de lipoperoxyde, éventuellement en éliminant les radicaux libres et en stimulant l'utilisation du glucose, et protège le pancréas des effets toxiques de l'alloxane.

❖ Neuro-protection :

L'EGb 761 agit comme un neuroprotecteur d'une façon directe sur les neurones d'une façon indirecte sur le sang et les radicaux libres (protège contre la mort des cellules neuronales), il améliore les processus d'apprentissage, la mémoire et les performances de rétention, et la circulation sanguine cérébrale significativement. Il est efficace aussi sur la démence dégénérative (l'Alzheimer) et la démence multi-infarctus, il augmente l'absorption et l'utilisation du glucose et la synthèse d'ATP, et en piégeant les radicaux libres qui sont en excès telle que l'oxyde nitrique qui peut provoquer des altérations et des dommages au niveau des cellules de l'hippocampe du SNC.

❖ Antivieillessement :

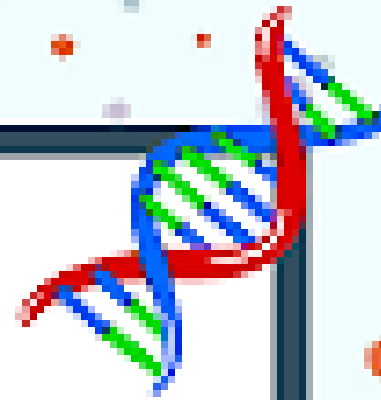
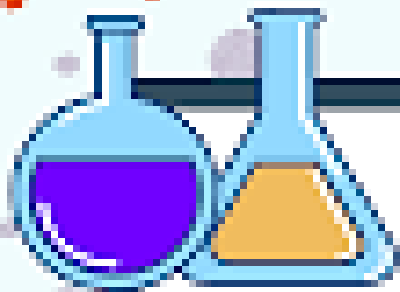
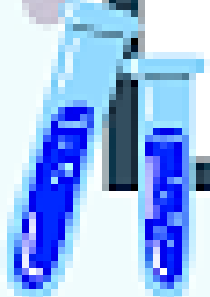
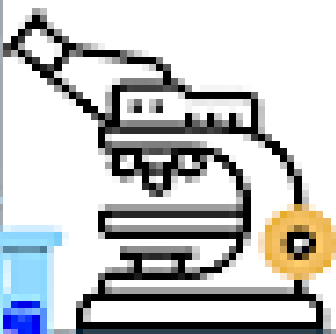
Ainsi qu'un effet d'antivieillessement par la stimulation de production de collagène et fibronectine extracellulaires des fibroblastes de la peau humaine (Chan et al., 2007).

Partie 02 :

Matériel

Et

Méthodes



I. Matériel :

1. Matériel biologique :

L'étude a été réalisée sur des lapins de la race néozélandais (*Oryctolagus cuniculus*) de sexes mâles et femelles, qui ont été fournis par un point de vente agréé par l'état (Chelghoum El-Aid, Constantine), dont le poids corporel est varié entre 2.5- 4Kg (Figure 13)



Figure 13 : Lapin de race néo-zélandais

2. Produit chimique :

Dans cette expérimentation les produits utilisés sont les suivants :

- Nitrite de sodium (Na NO_2), sous forme de sel (poudre). (Figure 14)
- Tanakan : extrait de *Ginkgo biloba* standardisé titré à 24% d'hétérosides de *Ginkgo* et 6% de Ginkgolide-bilobalide. (Figure 15)

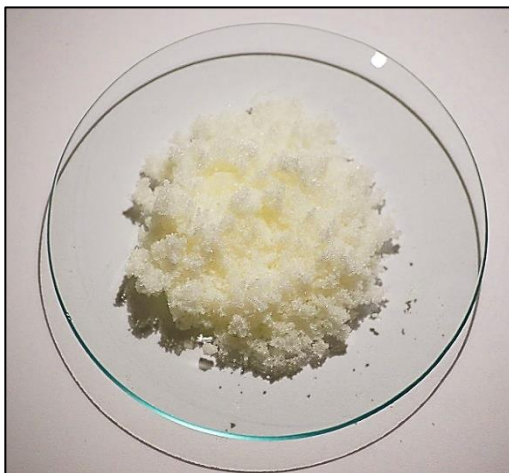


Figure 14 : Nitrite de sodium



Figure 15 : Tanakan

II. Méthodes :

1. Description d'élevage :

Les animaux ont été élevés dans l'animalerie du département de biologie appliquée de la faculté des sciences exactes et de la science de la nature et de la vie de TEBESSA. Depuis leur arrivée, les lapins ont été conservés dans des cages métalliques pendant toute la période d'adaptation (30 jours) et de traitement (7 semaines) à une température ambiante d'environ 24°C.

2. Mode de traitement :

Après une période d'adaptation (30 jours), les lapins sont répartis en 3 lots :

- Lot N°1 : groupe témoin (non traité), reçoit que l'eau et la nourriture.
- Lot N°2 : groupe traité par le nitrite de sodium selon le poids corporel des lapins (100mg/kg), l'administration de Na NO₂ se fait par la voie orale pendant 7 semaines, ensuite le traitement est arrêté et les lapins sont mis sous la surveillance pendant 3 semaines.

Trois lapins sont sacrifiés après chaque semaine :

- ❖ Le groupe N(S2) : Après deux semaines d'arrêt de traitement, 3 lapins traités par le nitrite de sodium seul sont sacrifiés.
- ❖ Le groupe N(S3) : Après trois semaines d'arrêt de traitement, 3 lapins traités par le nitrite de sodium seul sont sacrifiés.
- Lot N°3 : groupe traité par le Na NO₂ seul pendant 7 semaines et après l'arrêt de traitement sont traités par 20 mg/kg d'EGb761 pendant trois semaines :
 - ❖ Le groupe N/EGb761(S2) : Les lapins sont traités par le nitrite de sodium pendant 7 semaines et 2 semaines de Tanakan et 3 lapins sont sacrifiés.
 - ❖ Le groupe N/EGb761(S3) : Les lapins sont traités par le nitrite de sodium pendant 7 semaines et 3 semaines de Tanakan et 3 lapins sont sacrifiés.

3. Prélèvement sanguin :

Des prélèvements sanguins et des mesures de poids corporel ont été effectués chaque semaine. Les prélèvements sanguins sont effectués au niveau de la veine marginale de l'oreille des lapins dans la matinée à l'aide d'aiguille en général d'un diamètre de 18 à 20 gauges.

Le sang est immédiatement recueilli dans deux tubes étiquetés, l'un contient héparine et l'autre contient l'EDTA comme anticoagulant :

- Les tubes à EDTA serviront pour la détermination de la formule de numération sanguine FNS comme (globule rouge, globule blanc, hémoglobine, lymphocytes, ...)
- Les tubes héparines serviront pour les paramètres biochimiques (acide urique, urée, créatinine, TGO, TGP, albumine, ...)

Les analyses biochimiques et hématologiques des lapins étaient effectuées au sein de l'établissement public pharmacie Messaadi -TEBESSA- de préférence juste après la ponction.

Les tubes sont d'abord traités dans une centrifugeuse de marque Mindray BA-88A. Pour tous les paramètres biochimiques, les lectures d'absorbance des échantillons traités ont été réalisées à l'aide d'un spectrophotomètre de marque TDZ4-WS. Pour l'hématologie, les analyses ont été réalisées à l'aide d'un appareil (Mindray BS-200).

Cependant si L'analyses ne peut être effectuée rapidement. Les sérums récupérés sont ensuite congelés à 80 °C pour les autres dosages (Dosage des protéines totaux)

4. Mesure des poids et sacrifice des animaux :

- ✓ La mesure de poids est effectuée sur les lapins chaque semaine pendant toute la durée du traitement (7semaines) par le NaNO₂ pour préparer les doses 100 mg/1kg.
- ✓ Après 2 semaines et 3 semaines de l'arrêt du traitement les lapins ont été pesé et sacrifié.
- ✓ Les lapins sont pesés et sacrifiés lors de la prise l'EGb 761 pendant 2semaines et 3 semaines.
- ✓ La mesure de poids effectuée à l'aide d'une balance de 5kg.
- ✓ Après le sacrifice les lapins sont disséqués et les organes (foie, reins, cerveau, cœur, rate, poumons) sont récupérés et débarrassés de leurs tissus adipeux et pesés grâce à une balance de précision.

5. Analyses des paramètres biochimique et hématologique :

5.1. Analyses des paramètres hématologique : voire l'annexe

5.2. Analyses des paramètres biochimiques : voire l'annexe

5.3. Analyses statistiques des résultats :

Pour la comparaison, les résultats sont représentés sous forme de moyenne plus ou moins l'écart-type, et analyser statistiquement à l'aide de l'ANOVA, grâce au logiciel de Minitab avec une valeur de $\alpha=0.05$

Partie 03 :

Résultats

Et

Discussion



I. Résultats :

1. Variations du poids corporel et du poids des organes des lapins en fonction du traitement et du temps :

1.1. Suivi du poids corporel :

À partir des résultats de variation des poids corporels des lapins, aucune différence dans la croissance des animaux n'a été observée entre les groupes N (S2) et N (S3) ($p= 0.9999$), ainsi que entre le groupe N/EGb761(S2) N/EGb761 (S3) ($p= 0.0772$). Le développement des animaux est resté stable à travers le temps et n'a pas été influencé par l'EGb 761 quoique nous avons observé une meilleure croissance après l'administration de l'extrait phytochimique. (Figure 16)

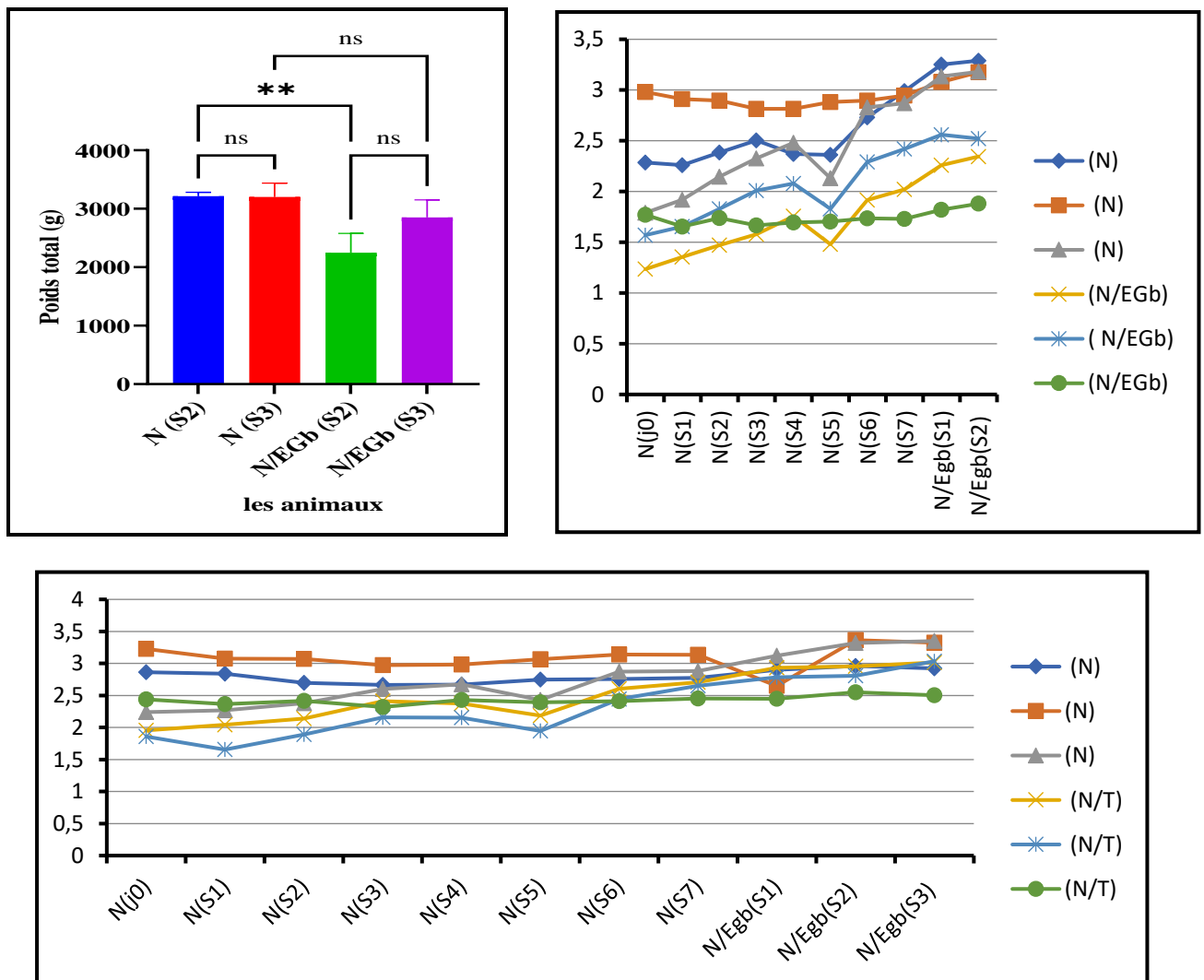
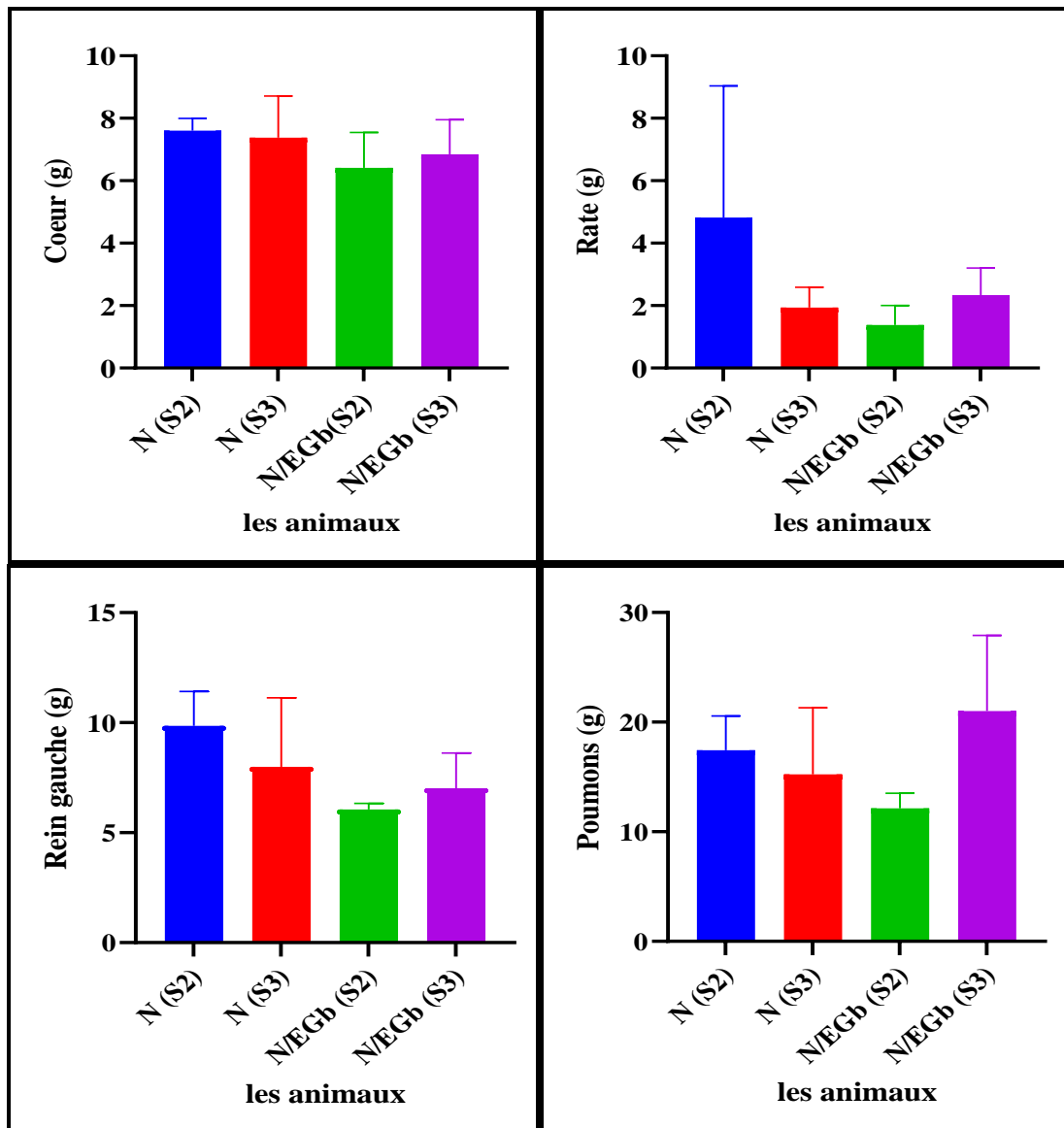


Figure 16 : Variation des poids corporels des lapins après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGb 761

1.2. Suivi du poids des organes :

Pour les poids des organes, les résultats ne montrent aucune différence significative entre les groupes N(S2) et N(S3) et aucun changement n'a été observé chez les groupes N/EGb761 (S2) et N/EGb761 (S3) ($P > 0.05$). Ainsi, l'analyse statistique pour le poids des différents organes a montré les résultats suivants : la rate ($p = 0.3033$), les poumons ($p = 0.2353$), le rein droit ($p = 0.2335$), le rein gauche ($p = 0.1785$), le foie ($p = 0.4997$), le cerveau ($p = 0.5670$) et le cœur ($p = 0.5392$). (Figure 17)



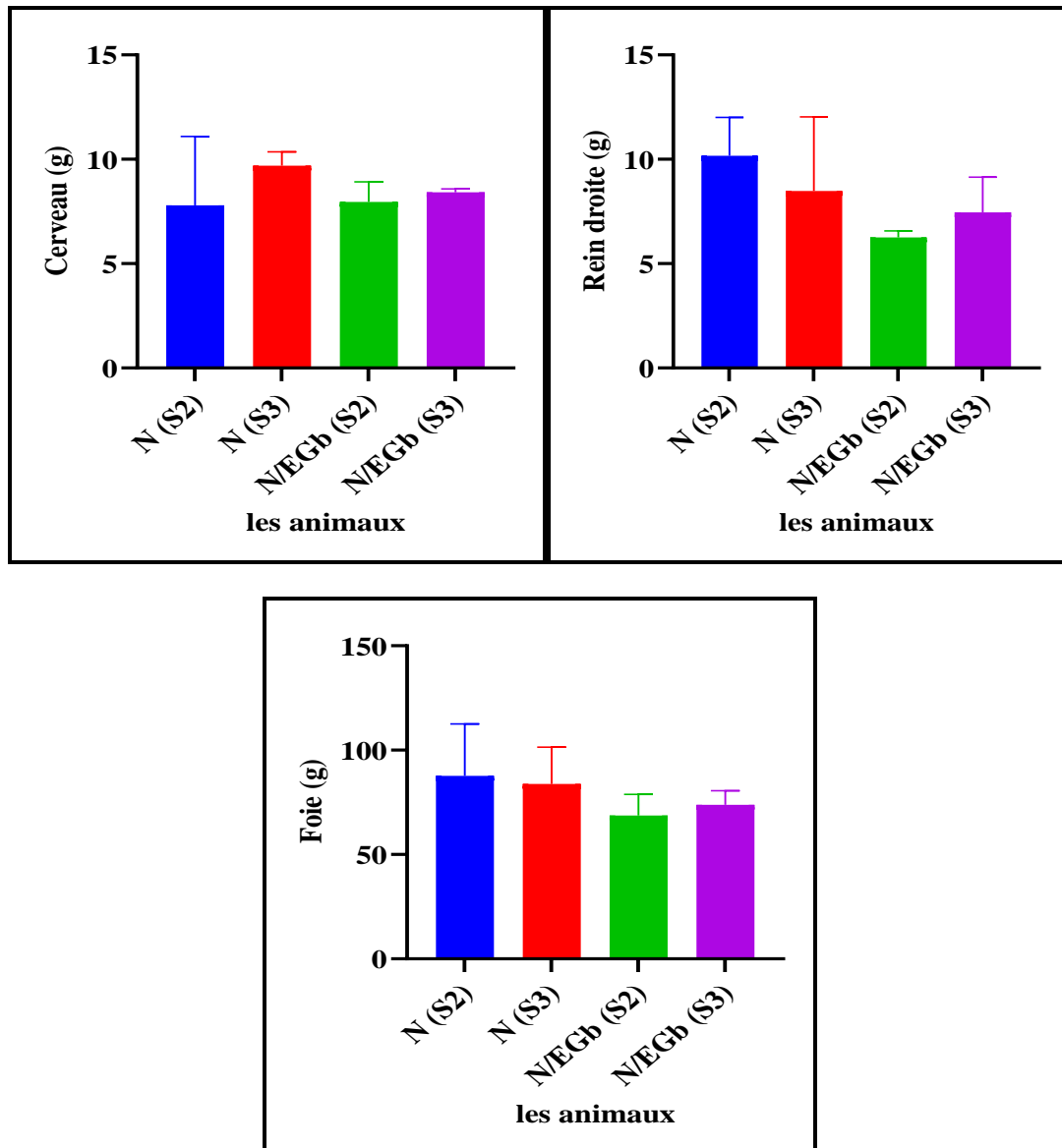


Figure 17 : Variation du poids d'organes des lapins après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO_2 et après 2 et 3 semaines de prise d'EGb 761

2. Evolution des paramètres biochimiques en fonction du traitement et du temps :

2.1. La fonction hépatique :

2.1.1. Glutamate-oxaloacetate-transaminase (TGO) :

Nos résultats montrent une augmentation significative de taux de TGO chez le groupe N(S2) $p=0.0003$ et chez le groupe N (S3) ($p<0.0001$) par rapport au groupe témoin sans différence significative entre eux (N(S2) et N (S3)) ($p=0.9919$).

Aussi, les taux de TGO ne montrent pas de différence significative entre les groupes N/EGb (S2) et N/EGb (S3) eux-mêmes ($p=0.7008$) et avec les groupes N(S2) et N (S3) ($p>0.05$), par contre en comparaison avec le groupe témoin, aucune différence significative a été observée (p)

chez le groupe N/EGb (S2) ($p=0.4579$), mais une augmentation significative chez le groupe N/EGb (S3) ($p=0.0064$). (Figure 18)

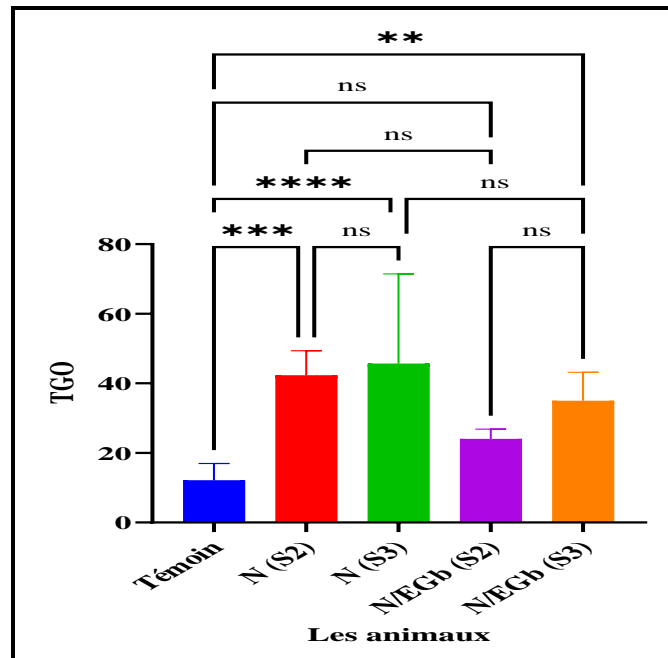


Figure 18 : Variation du teneur plasmatique de TGO après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO_2 et après 2 et 3 semaines de prise d'EGb 761, par rapport aux témoins.

2.1.2. Glutamate-pyruvate-transaminase (TGP) :

Tout comme pour la TGO, les résultats montrent une augmentation significative de taux de TGP chez le groupe N(S2) ($p=0.0009$) et chez le groupe N (S3) ($p<0.0001$) par rapport au groupe témoin. Aussi, la concentration de TGP ne montre aucune différence significative entre eux (N(S2) et N (S3)) ($p=0.8422$).

Les taux de TGP ne montrent pas de différence significative entre les groupes N/EGb (S2) et N/EGb (S3) eux-mêmes ($p=0.7615$) et avec les groupes N(S2) et N (S3) ($p>0.05$), par contre en comparaison avec le groupe témoin, aucune différence significative a été observée (p) chez le groupe N/EGb (S2) ($p=0.4393$), mais une augmentation significative chez le groupe N/EGb (S3) ($p=0.0084$). (Figure 19)

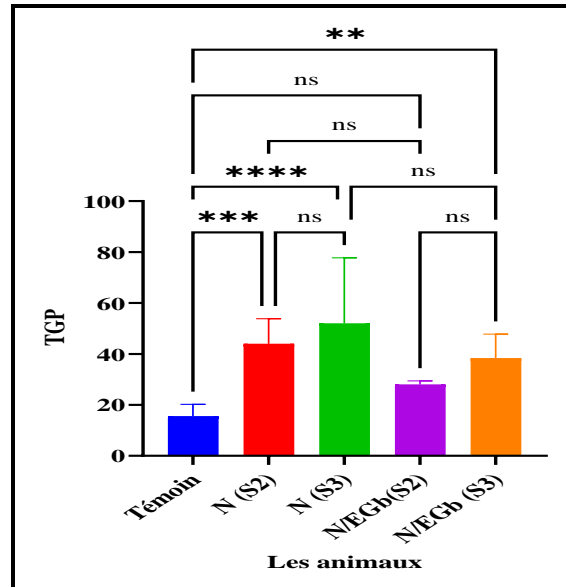


Figure 19 : Variation du teneur plasmatique de TGP après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGb 761, par rapport aux témoins

2.1.3. Gamma glutamyl transférase (GGT) :

À partir des résultats obtenus, nous observons une augmentation significative de la concentration de Gamma GT chez le groupe N(S2) ($p < 0.0001$) et le groupe N(S3) ($p < 0.0001$) par rapport le témoin, ainsi qu'une réduction chez le groupe N(S3) par rapport le groupe N(S2) ($p = 0.0064$).

Aussi, les taux de GGT ne montrent pas de différence significative entre les groupes N/EGb (S2) et N/EGb (S3) eux-mêmes ($p = 0.0771$). Une diminution significative chez le groupe N/EGb (S2) par rapport le groupe N(S2) ($p = 0 < 0.0001$), et aucune différence significative a été noté entre le groupe N(S3) et N/EGb (S3) ($p = 0.4333$) par contre en comparaison avec le groupe témoin aucune différence significative a été observée chez le groupe N/EGb (S2) ($p = 0.9921$), mais une augmentation significative chez le groupe N/EGb (S3) par rapport aux témoins ($p = 0.0162$). (Figure 20)

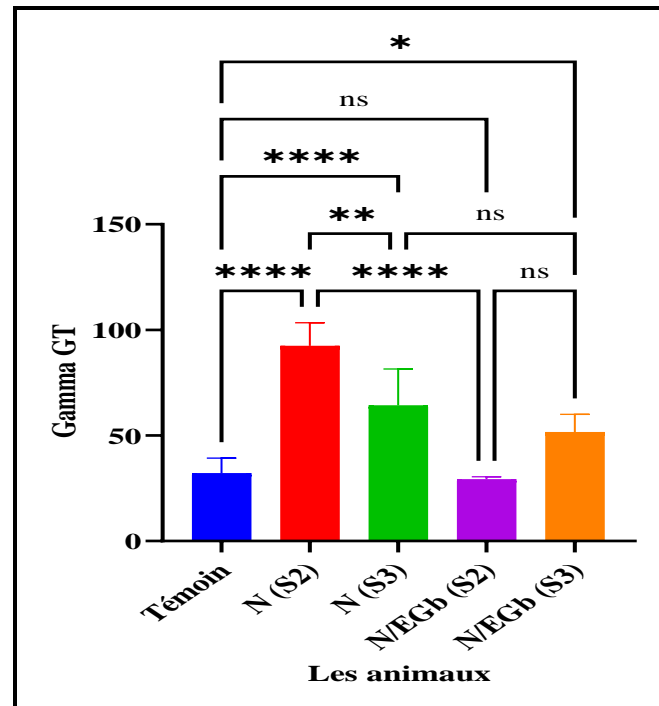


Figure 20 : Variation du teneur plasmatique de GGT après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO_2 et après 2 et 3 semaines de prise d'EGb 761, par rapport aux témoins

2.1.4. Phosphatases alcalines (PAL) :

Tous les groupes d'animaux ne montrent aucune différence significative sauf entre groupe N(S2) par rapport au groupe témoin ($p=0.0091$)

Groupe N (S3) ($p=0.8887$) par rapport aux témoins. (N(S2) et N (S3)) ($p=0.2257$).

Groupes N/EGb (S2) et N/EGb (S3) eux-mêmes ($p=0.9993$) et groupes N(S2) et N (S3) ($p>0.05$). (Figure 21)

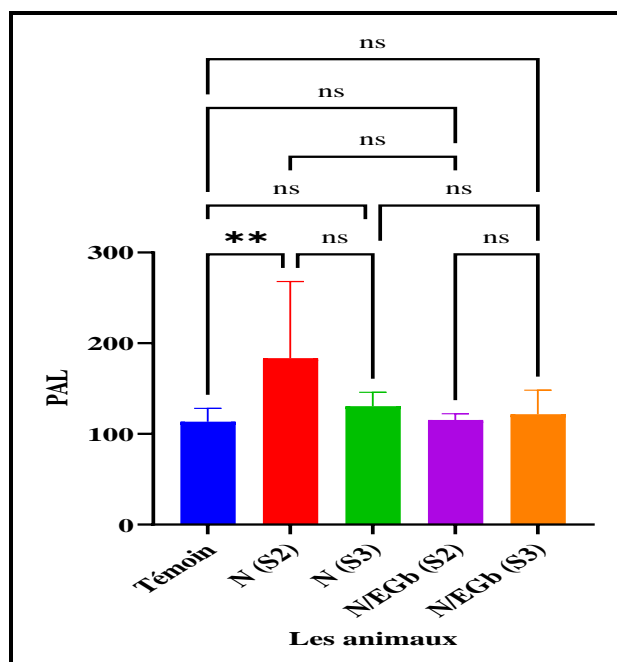


Figure 21 : Variation du teneur plasmatique de PAL après 2semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGb 761, par rapport aux témoins

2.1.5. Bilirubine totale :

D'après les résultats présentés ci-dessous on constate :

Ne montre pas une différence significative de taux de bilirubine totale chez le groupe N(S2) ($p=0.0801$) et chez le groupe N (S3) ($p=0.7296$) par rapport au groupe témoin. En revanche la concentration de bilirubine totale ne montre aucune différence significative entre eux (N(S2) et N (S3)) ($p=0.7281$).

Aussi, les taux de bilirubine T ne montrent pas de différence significative entre les groupes N/EGb (S2) et N/EGb (S3) eux-mêmes ($p=0.3866$) et avec les groupes N(S2) et N (S3) ($p>0.05$), par contre en comparaison avec le groupe témoin, une augmentation significative a été observée chez le groupe N/EGb (S3) ($p=0.0472$). (Figure 22)

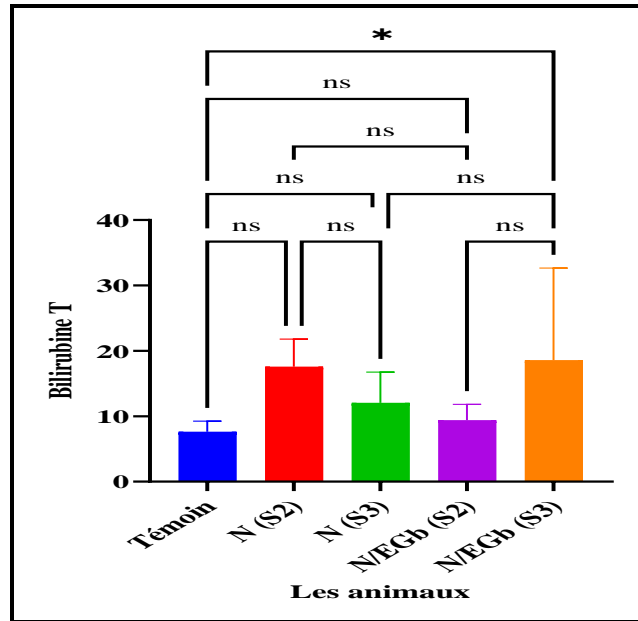


Figure 22 : Variation du teneur plasmatique de bilirubine total après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO_2 et après 2 et 3 semaines de prise d'EGb 761, par rapport aux témoins

2.1.6. Bilirubine directe :

Nous avons observé une augmentation significative de taux de la bilirubine directe chez le groupe N(S2) ($p=0.0002$) et une diminution significative de taux de bilirubine direct chez le groupe N(S3) par rapport au groupe N(S2) ($p=0.0225$), mais il n'existe aucune différence significative entre le groupe N(S3) et le groupe témoin ($P=0.6077$)

Aussi, les taux de bilirubine direct ne montrent pas de différence significative entre les groupes N/EGb (S2) et N/EGb (S3) eux-mêmes ($p=0.8544$) et avec le groupe témoin ($p>0.05$), par contre en comparaison avec le N(S2) une diminution significative a été observée ($p=0.0084$). (Figure 23)

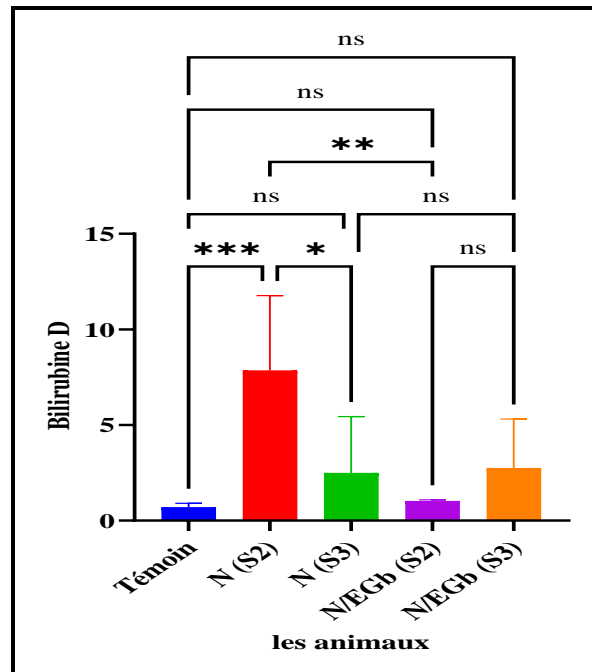


Figure 23 : Variation du teneur plasmatique de bilirubine directe après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO_2 et après 2 et 3 semaines de prise d'EGb 761, par rapport aux témoins

2.2. La fonction rénale :

2.2.1. Urée :

L'analyse statistique des résultats montre une augmentation significative de taux d'urée chez le groupe N(S2) $p=0.0012$ et chez le groupe N (S3) $p<0.0001$ par rapport au groupe témoin. En revanche la concentration d'urée ne montre aucune différence significative entre eux (N(S2) et N (S3)) ($p=0.8199$).

Aussi, les taux d'urée ne montrent pas de différence significative entre les groupes N/EGb (S2) et N/EGb (S3) eux-mêmes ($p=0.9951$) et avec les groupes N(S2) et N (S3) ($p>0.05$), par contre en comparaison avec le groupe témoin, une augmentation significative a été observée ($p<0.05$). (Figure 24)

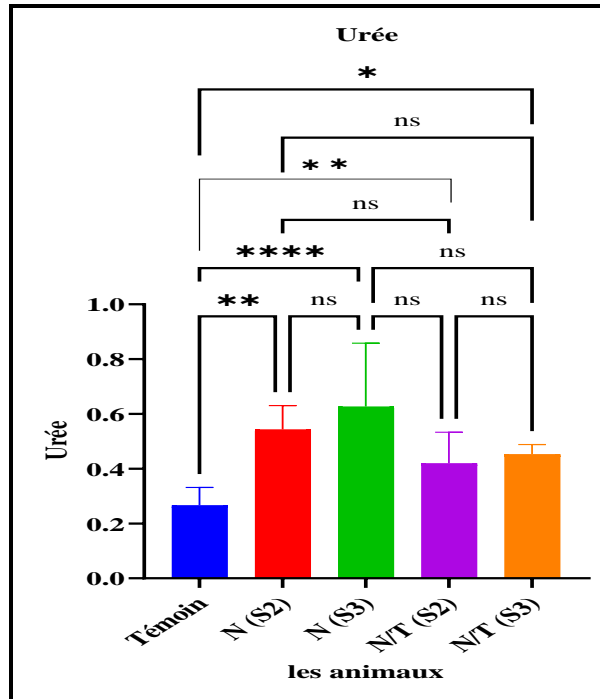


Figure 24 : Variation du teneur plasmatique d'urée après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO_2 et après 2 et 3 semaines de prise d'EGb 761, par rapport aux témoins

2.2.2. Créatinine :

Les résultats obtenus ont montré une augmentation significative de taux de créatinine chez le groupe N(S2) $p=0.0029$ et chez le groupe N (S3) ($p=0.0031$) par rapport au groupe témoin. En revanche la concentration de créatinine ne montre aucune différence significative entre les deux semaines (N(S2) et N (S3)) ($p>0.9999$).

Aussi, les taux de créatinine ne montrent pas de différence significative entre les groupes N/EGb (S2) et N/EGb (S3) eux-mêmes ($p=0.9997$) et avec les groupes N(S2) et N (S3) ($p>0.05$), par contre en comparaison avec le groupe témoin, aucune différence significative a été observée ($p>0.05$).

Ces résultats seraient le signe de l'efficacité de l'EGb76 sans pour autant être différent complètement de l'animal malade. (Figure 25)

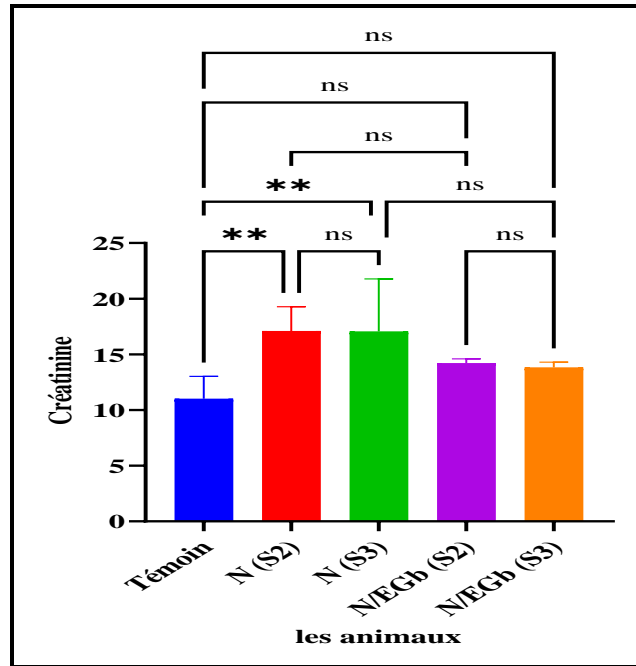
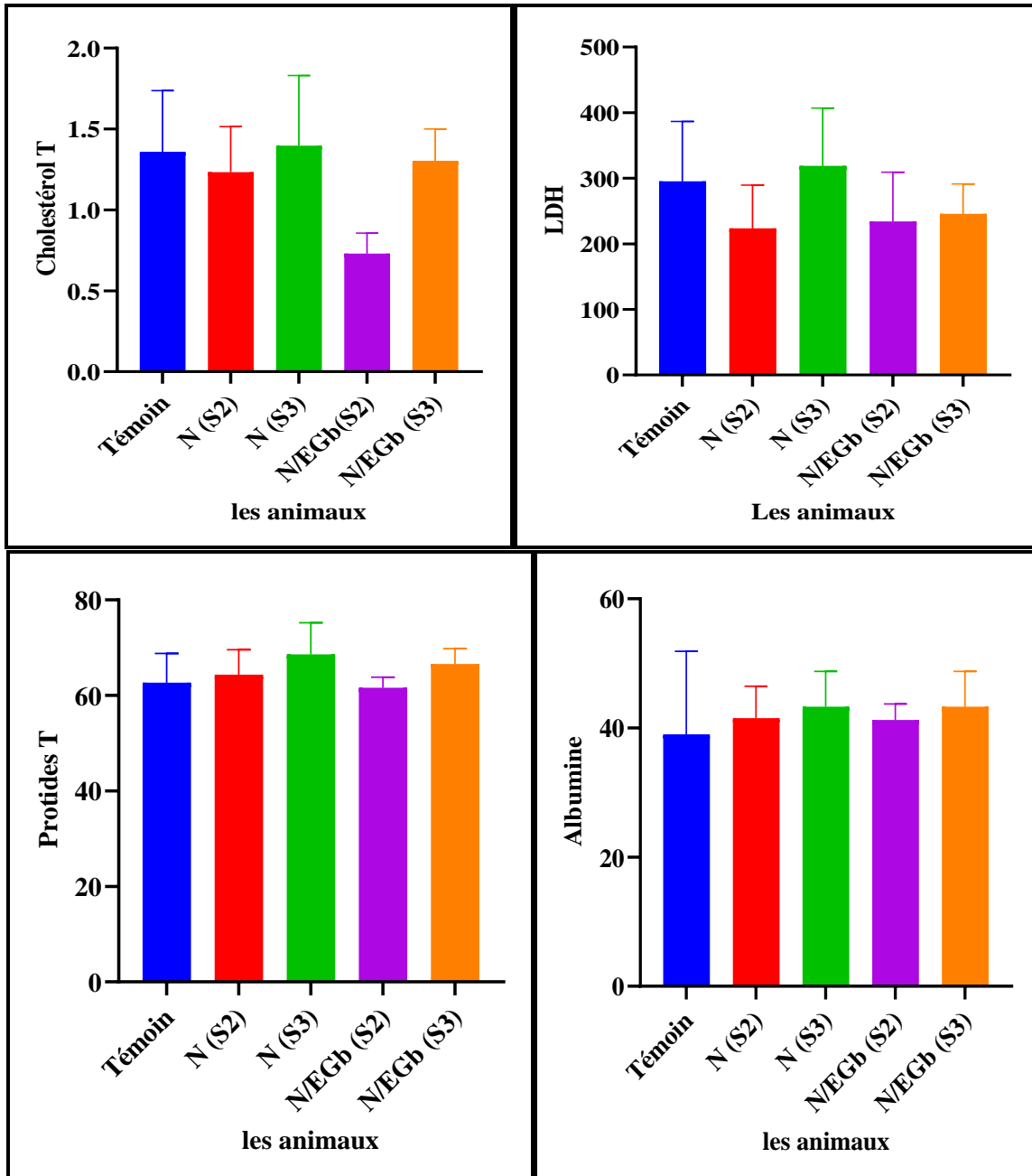


Figure 25 : Variation du teneur plasmatique de créatinine après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO₂ et après 2 et 3 semaines de prise d'EGb 761, par rapport aux témoins.

Ainsi, nos résultats ont montré que les nitrites de sodium induisaient des altérations fonctionnelles rénales que l'extrait EGb 761 améliorait sans pour autant être totalement efficace et rétablir la fonction rénale normale.

Pour les paramètres biochimiques : LDH, Cholestérol, protides T, Albumine et acide urique les résultats ne montrent aucune différence significative entre le groupe témoin et le groupe N(S2) ainsi qu'entre le groupe N(S2) et N (S3) et aucune amélioration a été observée chez les groupes N/EGb761(S2) et N/EGb761(S3) ($p > 0.05$). (Figure 26)



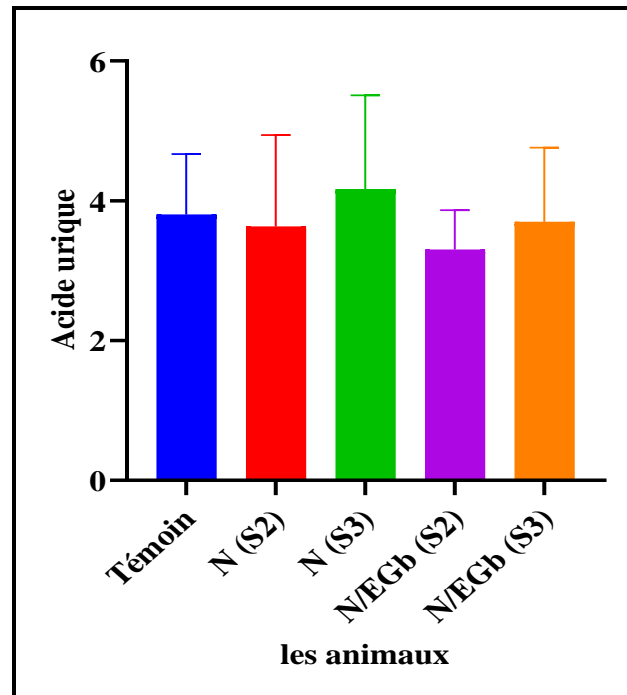


Figure26 : Variation du teneur plasmatique de LDH, Cholestérol total, Protides total, Albumine et acide urique après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO_2 et après 2 et 3 semaines de prise d'EGb 761, par rapport aux témoins

3. Evolution des paramètres hématologiques en fonction du traitement et du temps :

3.1. Analyses des marqueurs de l'inflammation :

3.1.1. Les globules blancs :

Les résultats présentés ci- dessous (figure) montrent une augmentation significative du nombre des globules blancs chez le groupe N(S2) par rapport le témoin $p= 0.0170$, tandis qu'aucune différence significative n'a été observé aussi bien entre le groupe N(S3) et le groupe N(S2) ($p=0.2583$) que entre le groupe N(S3) et le groupe témoin ($p =0.5030$). Ceci serait le reflet d'un possible rétablissement spontané incomplet.

Aucune différence significative n'a été relevé entre les groupes N/EGb (S2) et N/EGb (S3) ($p=0.5363$). Aussi, la comparaison entre les groupes N/EGb (S2) et N/EGb (S3) et les groupes N(S2) et N(S3) n'a pas montré de différences ($p>0.05$). Par contre, une augmentation significative a été relevée entre le groupe N/EGb (S3) par rapport au témoin ($p = 0.0163$). (Figure 27)

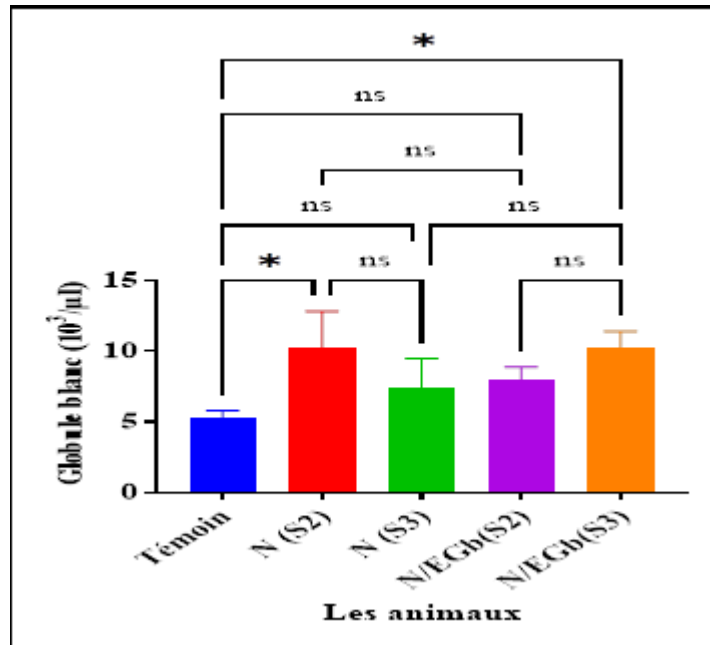
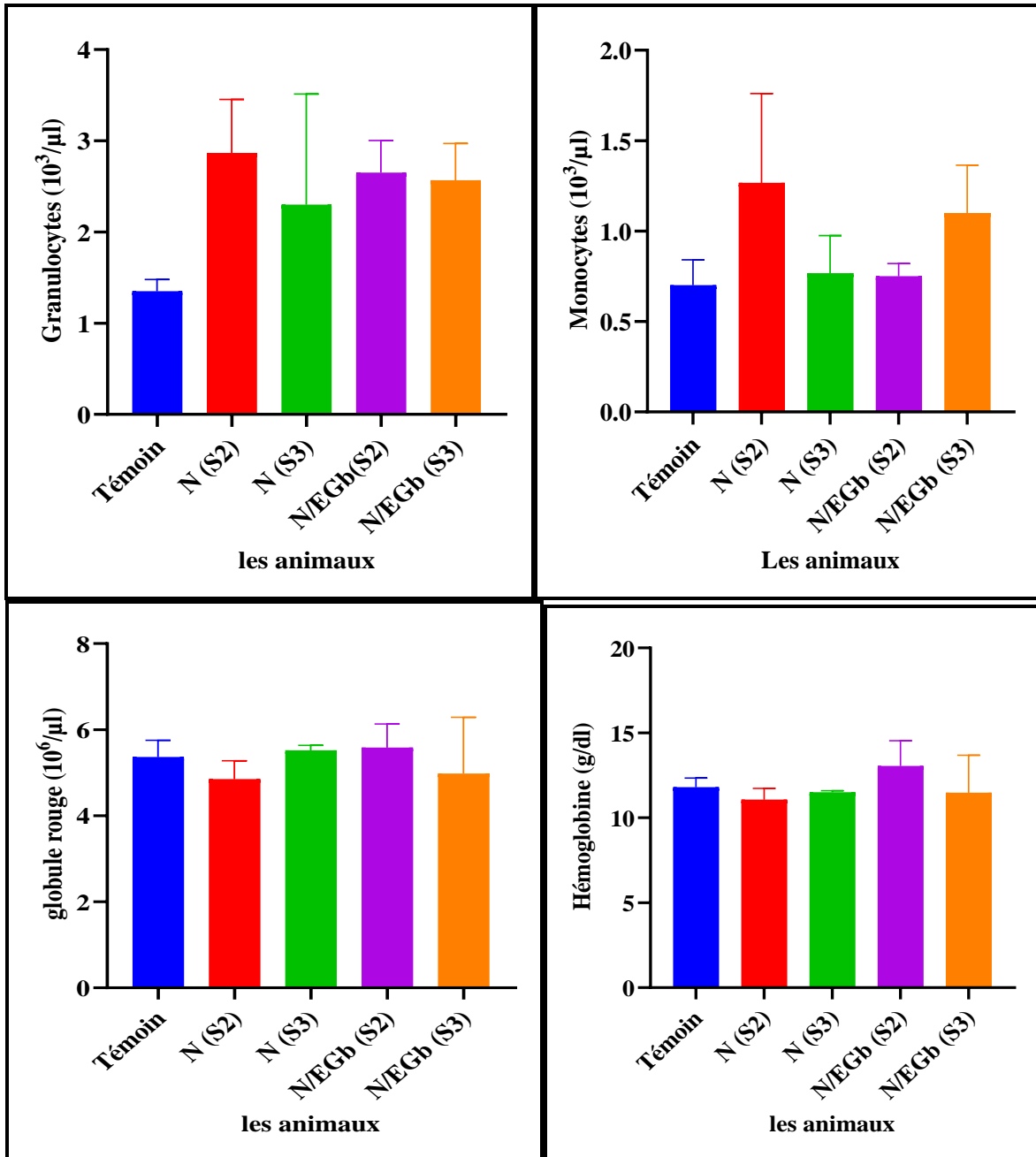


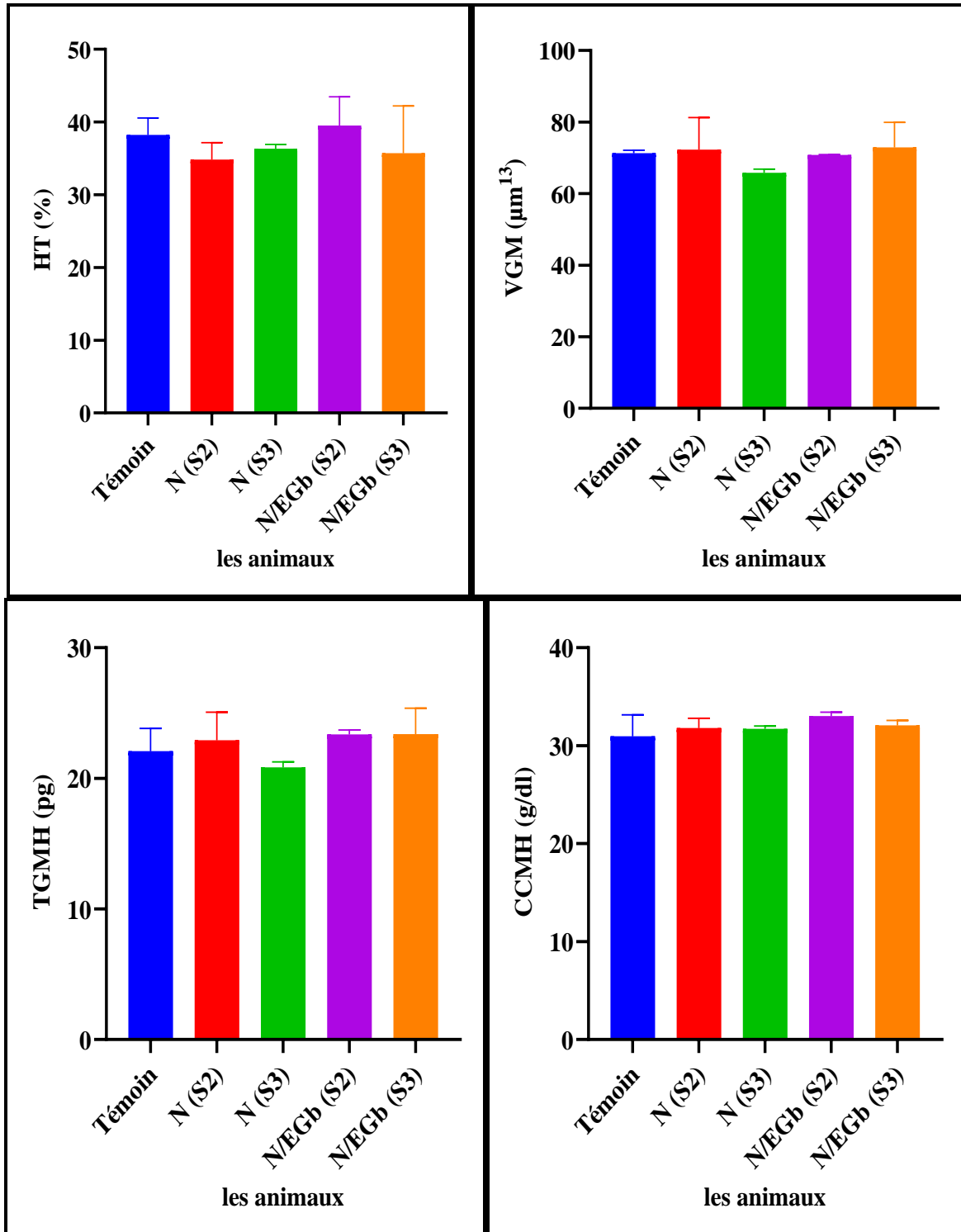
Figure27 : Variation du teneur plasmatique des GB après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO_2 et après 2 et 3 semaines de prise d'EGb 761, par rapport aux témoins

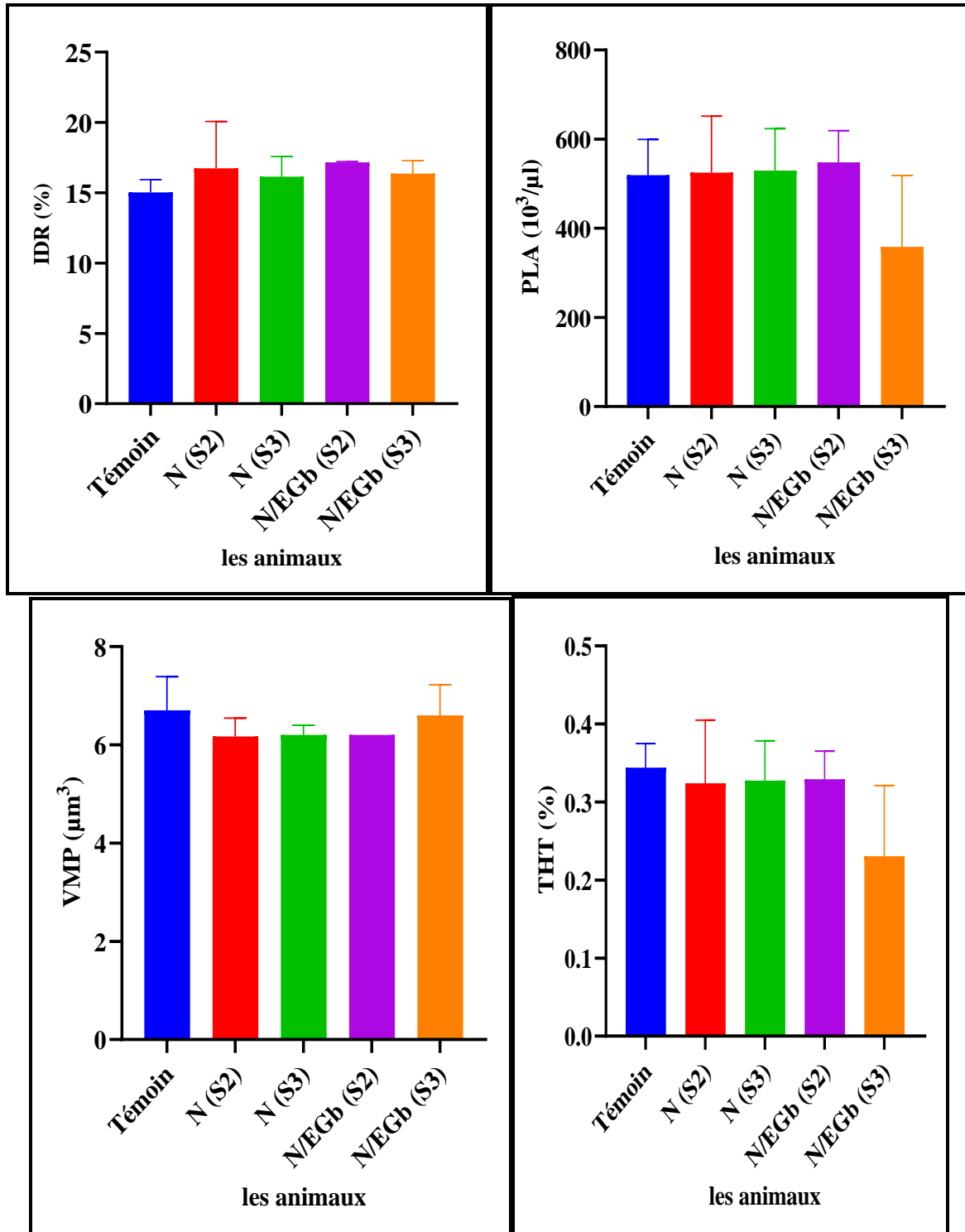
3.1.2. Les lymphocytes :

À partir des résultats obtenus, nous observons une augmentation significative du nombre de lymphocytes chez le groupe N(S2) par rapport le témoin $p= 0.0116$, tandis qu'aucune différence significative n'a été observé aussi bien entre le groupe N(S3) et le groupe N(S2) ($p=0.1393$) que entre le groupe N(S3) et le groupe témoin ($p =0.4481$). Ceci serait le reflet d'un possible rétablissement spontané incomplet.

Aucune différence significative n'a été relevé entre les groupes N/EGb (S2) et N/EGb (S3) ($p=0.1493$). Aussi, la comparaison entre les groupes N/EGb (S2) et N/EGb (S3) et les groupes N(S2) et N(S3) ($p>0.05$) n'a pas montré de différences. Par contre, une augmentation significative a été relevée entre le groupe N/EGb (S3) par rapport au témoin ($p = 0.0040$). (Figure 28)







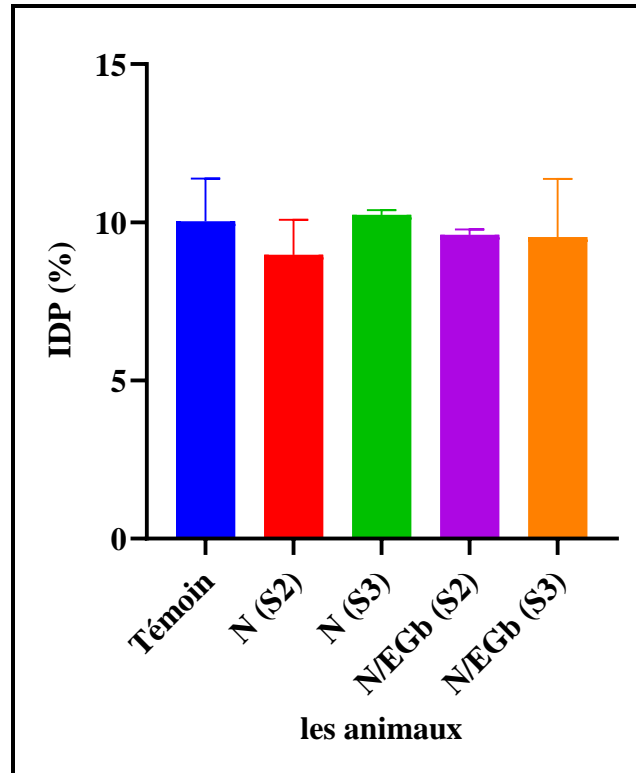


Figure 29 : Variation du teneur plasmatique des monocytes, granulocytes, GR, HB, HT, VGM, CCMH, TGMH, IDR, PLA, VMP, THT, IDP après 2 semaines et après 3 semaines d'arrêt de traitement par le NaNO_2 et après 2 et 3 semaines de prise d'EGb 761, par rapport aux témoins

Ainsi, nos résultats montrent que les nitrites de sodium n'affectent pas les paramètres hématologiques en générale sauf pour le taux des globules blancs et celui des lymphocytes, signes d'une possible inflammation qui s'estompe avec le temps mais aucun signe d'anémie n'a été observé chez les animaux.

II. Discussion :

1. Les effets du nitrite de sodium sur les paramètres biochimiques et hématologiques chez les lapins Néo-zélandais :

Dans notre travail, nous avons essayé d'évaluer les effets de l'administration de 20 mg/kg d'EGB 761 pendant 3 semaines sur les altérations hépatiques et rénales causées par le nitrite de sodium (100 mg/kg pendant 7 semaines) chez le lapin néo-zélandais.

Selon l'analyse des résultats obtenus à la fin de notre étude, il a été constaté que le lot traité avec du nitrite de sodium seul n'a pas connu de changement global quant au poids total des animaux ou au poids des organes (le foie, les reins, les poumons, la rate, le cerveau, le cœur) pendant la période d'expérimentation. On a mené plusieurs études sur des rats et des souris pour étudier l'impact des nitrites sur la croissance des animaux à court terme et après une exposition chronique. Selon ces recherches, il a été démontré que l'administration du NaNO_2 est soit inefficace pour augmenter le poids de l'animal, soit elle peut le diminuer. Une étude de **Helal et ses collaborateurs (2001)** démontre une baisse du poids corporel chez les rats à une concentration de 30 mg/kg pendant 6 mois. En revanche, l'étude menée par **Amini et ses collègues (2018)** sur des souris traitées avec du NaNO_2 à une dose de 50 mg/kg pendant une période de 60 jours n'a pas révélé de changements dans le poids corporel (**Amini et al, 2018**), ainsi que **Helal et son équipe (2001)** ont noté qu'il n'y a pas des changements dans le poids des organes (le foie, le cœur, le cerveau et les reins).

D'après nos résultats, on constate une élévation du taux des paramètres biochimiques (Urée, Créatinine, PAL, TGO, TGP, Gamma GT, Bilirubine totale, Bilirubine directe) et les paramètres hématologiques (les globules blancs, les lymphocytes) ainsi qu'une amélioration de taux de gamma GT et bilirubine directe lors de la prise de l'EGB 761.

Concernant la fonction hépatique, l'administration orale du NaNO_2 à 100 mg/kg provoque une augmentation significative des taux des transaminases (TGO et TGP). Nos résultats sont en accord avec le travail de **El-Nabarawy et ses collaborateurs (2020)** ; qui ont traité des rats avec les doses (20, 40, 60 et 75 mg/kg de poids corporel) et plus la dose est élevée, le taux de ces enzymes est augmenté, ainsi que de la phosphatase alcaline (PAL). Nos résultats sont bien confortés par les données publiées par **Salama et ses collaborateurs (2013)** et **Al-Gayyar et Sherif (2015)**, ces derniers ayant utilisé la dose 80 mg/kg chez les rats pendant 12 semaines. Sachant que le foie est l'organe fondamental de la détoxification parce qu'il contient la plupart des enzymes du

métabolisme. L'augmentation des transaminases indique une prédominance de la nécrose hépatocellulaire, en particulier celle de la TGP, qui est spécifique du foie, tandis que la TGO l'est moins. Selon **Abdel-Rahman et ses collègues (2018)**, il est possible que l'équilibre de l'activité de ces enzymes hépatiques soit perturbé en raison des effets toxiques des composés nitrosés formés dans l'environnement acide de l'estomac, ce qui entraîne une nécrose hépatique sévère. Selon **Ignatov (1976)** ; L'augmentation des niveaux de TGO entraîne une nécrose des cellules hépatiques, ce qui induit des dommages de la paroi cellulaire, une cytolysse et une libération d'une quantité significative de ces enzymes mitochondriales dans le sang et l'augmentation de la concentration de PAL induit par le nitrite de sodium qui provoque des altérations au niveau de la paroi endothéliale, de la veine hépatique centrale et un drainage des fibres de collagène entourant une veine centrale. Ces résultats démontrent une atteinte hépatique du nitrite de sodium chez le rat, ce qui est cohérent avec une étude précédente (**Hassan et al., 2010**).

Le groupe traité par le nitrite de sodium a montré une augmentation significative de la Gamma GT. Nos résultats sont en concordance avec les résultats de **El Mesallamy et son équipe (2011)** ce dernier ayant traité les rats par 10mg/kg pendant 12 semaines et **Helal (2001)** qui utilise 10mg/kg pendant un mois, cette augmentation est causée par la libération de ces enzymes en grande quantité dans le plasma après des dommages causés par le nitrite de sodium aux cellules hépatiques. La diminution des concentrations de la GGT est un signe de l'amélioration spontanée de l'altération hépatique.

Les résultats de la bilirubine totale et directe du groupe traité par le nitrite de sodium sont également supérieurs à la normale et sont en concordance avec les résultats de (**Salama et al., 2013**) qui ont été traité les rats par 80 mg/kg pendant 3 mois ; Ils expliquent que ces résultats sont associés à des ruptures au niveau de la paroi endothéliale de la veine hépatique centrale. La bilirubine totale, qui est le résultat de la dégradation de l'hémoglobine, est divisée en bilirubine directe (conjuguée) et indirecte (non conjuguée). La bilirubine directe est une mesure de la capacité d'élimination des hépatocytes. En cas d'incapacité à la sécréter ou à l'excréter, la bilirubine conjuguée est élevée. L'augmentation de la bilirubine conjuguée est donc plus représentative d'une maladie hépatique due à une cholestase intra-hépatique probablement due à une inflammation hépatique.

De même, la fonction rénale a été affecté par le NaNO_2 , cette fonction est estimée au taux de l'urée et la créatinine. Les résultats ont montré une élévation de concentration de l'urée et la créatinine chez les lapins traités par le nitrite de sodium. Nos résultats sont en accord avec le travail de **Hassan et son équipe (2009)** mais à dose de 80 mg/kg pendant une période de 3 mois. La créatinine et l'urée sont des produits de dégradation protéique, Ils sont éliminés par les reins, et

utilisées généralement comme des marqueurs d'une fonction rénale correcte. Selon (**Boukerche et al., 2007**) et (**Almadal et Vilstrup, 1988**), les taux sériques de ces paramètres augmentent lorsque l'insuffisance rénale se manifeste. Ceci suggère une réduction de la capacité des reins à filtrer ces déchets sanguins. **Mongi et son équipe (2011)** ont été signalé que cette toxicité pourrait être attribuée par les radicaux libres qui induits des dommages oxydatifs et la concentration sérique de la créatinine et l'urée dépendent en grande partie de l'infiltration glomérulaire.

Sur le plan hématologique, aucun changement significatif n'a été noté dans le taux des globules rouges, les monocytes, les granulocytes, l'hémoglobine, l'hématocrites, VGM, TGMH, CCMH, IDR, les plaquettes, VPM, THT et IDP. Cependant nous avons remarqué que le nombre des globules blancs et les lymphocytes augmente chez les lapins traités par 100 mg/kg du nitrite de sodium. Ceci peut être confirmé par le travail de **Zitouni et et Zahaf (2020)** ont examiné les effets de NaNO₂ solubilisé dans l'eau distillée sur le taux des globules blancs chez des souris exposé à la dose 3 g/Kg, chaque jour pendant six mois. Une augmentation notable du pourcentage des lymphocytes a été enregistrée chez les rats traités par 50 mg/kg de nitrite de sodium 24 heures avant la décapitation (**S Abdel-Baky, 2019**), Par contre une diminution des lymphocytes et des globules blancs a été observé sous l'effet de nitrite de sodium lors de l'administration de la dose 50 mg/kg aux rats pendant 4 mois selon (**Gluhcheva et al., 2012**). Le nombre des globules blancs peut être augmenter lorsqu'il s'agit des maladies aiguës, fébriles et infectieuses (**Berthélémy , 2014**), d'une fièvre typhoïde, de la pneumonie ; infection aiguë pulmonaire bactérienne ainsi que d'une formation de pus dans l'organisme et des lésions des organes lymphatiques (**Bonne, 1876**) Et peut-être dû à une réaction leucémoïde est souvent observé lors d'infections sévères en phase de régénération, en cas d'inflammation et de tumeurs avec métastases osseuses mais doit être différencié d'une leucémie myéloïde chronique (LMC) (**Bron, 2013**).

Une augmentation du nombre de lymphocytes peut être provoquée par des maladies infectieuses (mononucléose infectieuse, infection à cytomégalo virus, infection au virus de l'immunodéficience humaine [VIH], toxo plasmosse, etc...), en cas d'hémopathies malignes (leucémie lymphoïde chronique, lymphomes). (**Berthélémy, 2014**), en revanche, l'augmentation du nombre des lymphocytes est probablement le résultat d'une réponse immunitaire spécifique vis-à-vis de l'allergène (**Bensakhri et al., 2014**).

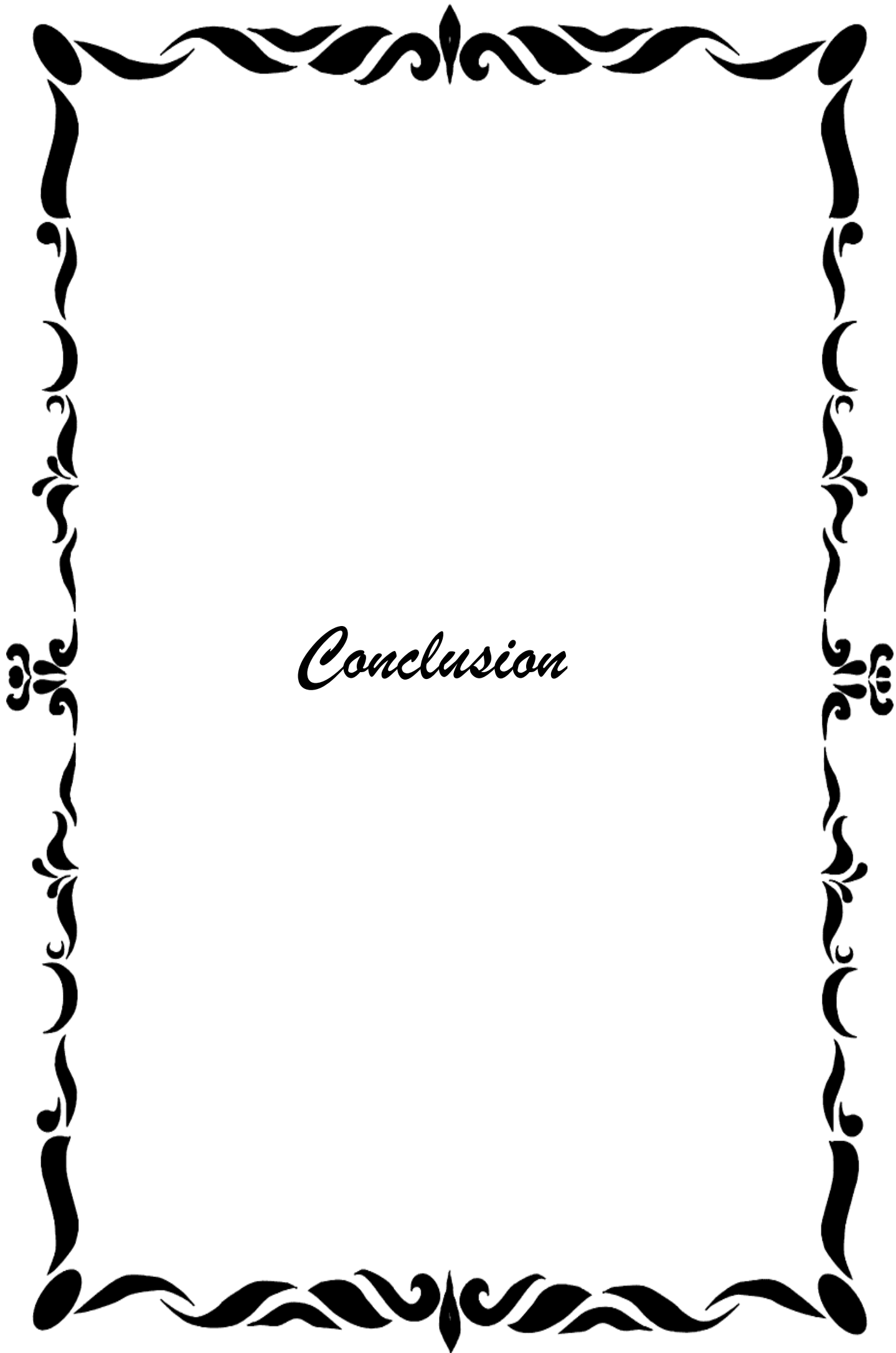
Le *Ginkgo biloba* standardisé (EGb 761) présente différentes activités biologiques et effets pharmacologiques, tels que son effet antioxydant, anti-âge, anti-inflammatoire et améliorateur de la circulation sanguine. De plus, son effet anti tumorale et neuroprotecteur (**Chan et al., 2007**).

Dans notre expérience, nous avons constaté que les lapins mis sous l'administration de l'extrait de *Ginkgo biloba* standardisé (EGb 761) à une dose de 20 mg/kg après la prise de 100 mg/kg de nitrite de sodium, ce qui entraîne une amélioration de gamma GT, TGO, TGP, bilirubine direct, PAL et la créatinine. Les conclusions sont en accord avec celles d'**Al-Attar (2012)** qui a traité les souris albinos mâles adultes avec une dose de 33.33 mg/ kg (15 g de *Ginkgo biloba* broyés et ajoutés à 500 ml) d'eau pendant 9 semaines et **Harputluoglu et ses collaborateurs (2006)** qui utilisent 100 mg/kg sur des rats Wistar pendant 5 jours ainsi que les résultats de **Soudani et Laiachi (2015)** qui utilise 20mg/kg de l'EGb 761 sur des lapins et aussi **Khattab (2012)** qui a traité les rats par 150 mg/kg pendant 14 jour et **Slatnia et Moussa (2014)** qui ont appliqué 20 mg/kg sur des lapins traité par le nitrite de sodium.

Plusieurs études ont rapporté l'effet protecteur, préventif ou curatif de l'EGb 761 sur le foie, avec des objectifs variés. Les effets de l'EGb sur l'hépatocarcinogénèse étaient positifs en raison de son effet antioxydant, anti angiogénique et anti génotoxique (**El Mesallamy et al., 2011**).

L'extrait de *Ginkgo biloba* est utilisé dans le cas de l'hépatotoxicité induite par le Tétrachlorométhane (CCl₄) qui provoque une nécrose hépatique associée à une infiltration cellulaire, une dégénérescence vacuolaire des hépatocytes et une fibrose hépatique. Son utilisation a été avec une dose de 150 mg/kg pendant 2 semaines avant l'injection du CCl₄ et après deux semaines ; la majorité des cellules sont revenues à la normale (**Khattab, 2012**).

Selon **Chávez-Morales et ses collègues (2010)**, une étude a été réalisée en utilisant une seule dose orale de CCl₄ et en prétraitement avec 4 mg/kg de EGb pendant 5 jours. Les résultats indiquent que le prétraitement a permis de prévenir la plupart des altérations causées par le CCl₄. Ces effets bénéfiques d'EGb peuvent être partiellement expliqués par ses propriétés antioxydantes, par l'inhibition de l'isoenzyme P450 (CYP2E1) qui métabolise le Tétrachlorométhane, et par la régulation des cytokines pro-inflammatoires et profibrotiques que sont le facteur de nécrose tumorale alpha (TNF-a) et l'interleukine 6 (IL-6)



Conclusion

Conclusion :

L'objectif de cette étude visait, en premier lieu, à vérifier un possible rétablissement spontané après administration du NaNO₂ pendant un mois et demi et, en deuxième lieu, d'évaluer la capacité de l'extrait de *Ginkgo biloba* standardisé à améliorer les altérations induites par ce dernier. Ceci a été réalisé par l'exploration de la fonction hépatique, la fonction rénale et par l'étude des paramètres hématologiques.

Les résultats obtenus dans notre étude consistent en :

- Le poids des animaux traités avec NaNO₂ est resté plus ou moins stable pendant le traitement et après arrêt mais avec la prise de l'EGb761 la prise de poids est améliorée, de même pour les poids des organes qui n'a montré aucun changement,
- Les paramètres hématologiques sont en générale non modifiées ni après arrêt de NaNO₂ ni avec la prise de l'EGb761 sauf pour le nombre des globules blancs et des lymphocytes, et sur les quels l'extrait n'a pas eu d'effet,
- La fonction rénale a été altérée par la prise de NaNO₂ et ne s'est pas améliorée après arrêt du traitement, l'EGb761 a diminué les taux des paramètres rénaux qui restent quand même élevés,
- La fonction hépatique a été altérée par la prise de NaNO₂ et ne s'est pas améliorée après arrêt du traitement sauf pour la phosphatase alcaline et la bilirubine directe où un retour à la normale a été remarquée, en revanche l'EGb761 a diminué les taux des paramètres hépatiques à la deuxième semaine puis une augmentation a été observée,
- Les autres paramètres biochimiques, à savoir : LDH, Cholestérol, protéines totales, Albumine et acide urique n'ont pas été touché aussi bien à travers les traitements que à travers le temps.

À la lumière de nos résultats nous pouvons conclure que l'administration de nitrite de sodium aux lapins néo-zélandais pendant 7 semaines provoque une hépatotoxicité, une réno-toxicité et une inflammation évaluée par l'élévation de nombre des globules blanc et des lymphocytes et que la prise de l'EGb 761 pendant 3 semaines serait bénéfique pour l'amélioration de la fonction hépatique en diminuant le taux de GGT et bilirubine directe.

Enfin, vu l'inefficacité de l'EGb 761 sur la toxicité rénale des nitrites, notre perspective est d'augmenter le temps d'exposition des animaux à l'EGb 761 ou bien d'augmenter la dose administrée.

A decorative border with a repeating pattern of stylized, symmetrical floral or leaf-like motifs, rendered in black on a white background. The border frames the central text.

Liste des références

Références bibliographiques :

A

- Abdel-Baky, E. S. (2019). Efficiency of *Lepidium sativum* seeds in modulation the alterations in hematological parameters induced by sodium nitrite in rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 74(2), 396-402.
- Abdel-Rahman HG, Abd-El-Fattah ME, Youssef MF, Essawi EART, Elsedawy MEI .2018. The protective effect of different doses of alpha lipoic acid against hepatotoxicity of sodium nitrite in rat. *Int J Dev Res* 08(11) Pp: 24140–24145.
- Al-Attar, A. M. (2012). Attenuating effect of *Ginkgo biloba* leaves extract on liver fibrosis induced by thioacetamide in mice. *BioMed Research International*, 2012.
- Almdal, T. and Vilstrup, H., 1988. Strict insulin therapy normalises organ nitrogen contents and the capacity of urea nitrogen synthesis in experimental diabetes in rats. *Diabetologia*, 31(2), pp.114-118.
- Alzahrani, H. S., Jackson, K. G., Hobbs, D. A., & Lovegrove, J. A. (2021). The role of dietary nitrate and the oral microbiome on blood pressure and vascular tone. *Nutrition Research Reviews*, 34(2), 222–239. doi :10.1017/S0954422420000281.

B

- Bellik, B., Derghal, K., Sancho, J., Rhaoui, A., Cailliez, M., Denance, A. M., & Fraïsse, F. (2001). A propos d'un cas de méthémoglobinémie grave suite à une intoxication volontaire par une teinture de chaussures. In *Annales de Toxicologie Analytique* (Vol. 13, No. 2, pp. 88-93). EDP Sciences.
- Bensakhri, Z., Zerguine, K., Bouguenoun, I., & Bendjeddou, D. (2014). L'effet inflammatoire de l'extrait brut de *Phaenopsectra flavipes* (Diptera: Chironomidae) du Nord-Est algérien, chez un modèle murin (*Mus musculus*). *Revue Française d'Allergologie*, 54(7), 485-493.
- Berthélémy, S. (2014). L'hémogramme ou numération-formule sanguine. *Actualités pharmaceutiques*, 53(538), 53-55.
- Bonne, H. (1876). Variation du nombre des globules blancs du sang dans quelques maladies. V. Adrien Delahaye et Cie., Libraires-Éditeurs.
- Boukerche, S., Aouacheri, W., Saka, S., 2007. The toxic effects of nitrates: biological study in humans and animals. *Ann. Biol. Clin.* 65. 385-391.
- Bron, D. (2013). Approche rationnelle d'une hyperleucocytose. *Rev. Médicale Brux*, 34, 339-342.

C

- Cadet, E. (2017). Etude phytochimique et emplois de plantes veinotoniques (Doctoral dissertation, Université de Lorraine).
- Chan, P. C., Xia, Q., & Fu, P. P. (2007). Ginkgo biloba leave extract: biological, medicinal, and toxicological effects. *Journal of environmental science and health part C*, 25(3), 211-244.
- Chávez-Morales RM, Jaramillo-Juárez F, Posadas del Río FA, Reyes-Romero MA, Rodríguez-Vázquez ML et MC Martínez-Saldanã. 2010. Protective effect of Ginkgo biloba extract on liver damage by a single dose of CCl₄ in male rats- *Human and Experimental Toxicology*. 30(3) Pp: 209–216.
- Chébékoué, S. F. (2009). Évaluation du risque cancérigène associé à la contamination de l'eau potable de puits municipaux par les nitrates/nitrites dans certaines régions rurales du Québec.
- cheriet halima, et berbara hadjira. (2019). étude de quelques paramètres hématologiques chez des brebis de la race locale dans la région de Tiaret (doctoral dissertation, université ibn khaldoun Tiaret).
- Clerc, P. (2006). Etude des effets mitochondriaux du monoxyde d'azote: Régulation de l'oxydation phosphorylante et de la transition de perméabilité (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).
- Corriveau, J. (2009). Étude des concentrations toxiques de nitrite dans les cours d'eau d'un bassin versant agricole. Institut National de la Recherche Scientifique (Canada).

D

- Diaby, V. (2017). Etudes biochimique, hématologique et histologique du sulfate de cadmium chez les rats WISTAR (Doctoral dissertation, UNIVERSITE FELIX HOUPHOUET BOIGNY).
- Dieudonné, E. (2012). Analyse multi-instrumentale de l'influence de la variabilité de la hauteur de couche limite sur la distribution verticale des oxydes d'azote en région parisienne (Doctoral dissertation, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
- Dumas, M. C. (2007). Rôle du monoxyde d'azote lors d'une pneumonie à pneumocoque. Effet bénéfique du nitroprusside de sodium.

E

- E. Bérard. (1997). Métabolisme et régulation du monoxyde d'azote : un médiateur de contrôle difficile. *Archives de pédiatrie*, 4(10), 1004-1011.
- El Mesallamy, H. O., Metwally, N. S., Soliman, M. S., Ahmed, K. A., & Abdel Moaty, M. M. (2011). The chemopreventive effect of Ginkgo biloba and Silybum marianum extracts on hepatocarcinogenesis in rats. *Cancer cell international*, 11, 1-12.
- El-Nabarawy Nagla A., Ahmed S. Gouda, Mohamed A. Khattab et Laila A. Rashed. 2020. Effects of nitrite graded doses on hepatotoxicity and nephrotoxicity, histopathological alterations, and activation of apoptosis in adult rats-*Environmental Science and Pollution*.

F

- Fields S. 2004. Global nitrogen: cycling out of control. *Environ Health Perspect*.

G

- Gagné, J. (2008). La céruloplasmine et l'oxyde nitrique dans la protection des cellules cardiaques.
- Gasnier, A. (2023). Paramètres de la numération formule sanguine d'intérêt pronostique chez les patients pris en charge pour un syndrome coronarien aigu ST+ : analyse du registre SCALIM de l'université de Limoges, Faculté de Médecine.
- Gaudreau, D., & Mercier, M. (1997). La contamination de l'eau des puits privés par les nitrates en milieu rural. Régie régionale de la santé et des services sociaux, Montérégie, Module de santé environnementale.
- Gigan, D. (2023). Fonctions non catalytiques de la lysine acétyltransférase DmMOZ dans le contrôle de l'homéostasie hématopoïétique chez *Drosophila melanogaster* (Doctoral dissertation, Université Paul Sabatier-Toulouse III).
- Gluhcheva y Ivanov Lipetrova E. et Valdou 1.2012 Modifications hématologiques et hémorhéologiques induites par le nitrite de sodium chez le rat, N 3-4,53-58.

H

- Hamon, M. (2007, September). Les nitrates peuvent-ils induire une toxicité indirecte ? In *Annales pharmaceutiques françaises* (Vol. 65, No. 5, pp. 347-355). Elsevier Masson.

- Harputluoglu, M. M. M., Demirel, U., Ciralik, H., Temel, I., Firat, S., Ara, C. E. N. G. İ. Z., ... & Hilmioglu, F. (2006). Protective effects of Ginkgo biloba on thioacetamide-induced fulminant hepatic failure in rats. *Human & experimental toxicology*, 25(12), 705-713.
- Hassan H A, Hafez HS, Zeghebar FE. (2010). Garlic oil as a modulating agent for oxidative stress and neurotoxicity induced by sodium nitrite in male albino rats. *Food Chem Toxicol* 48:1980–5.
- Hassan H A., Sherif M El- Agmy., Rajiv L Gaur., Augusta Fernando., Madhwa HG Raj., Allal Ouhtit. 2009. effet hépato- et réno- protecteur de l'huile d'ail contre le stress oxydatif induit par le nitrite de sodium- *International Journal of Biological Sciences*. 10-03-2009. 5(3). P. : 249-255.
- Helal Eman. 2001. Progressive effects of the interaction of Sodium nitrite and sunset yellow on different physiological parameters in albino rats-The Egyptian Journal of hospital medicine.2 Pp: 23-46.

I

- Idrissi, L. (2006). Nitrates et nitrites Polluants qui menacent la santé et l'environnement. *Les technologies de laboratoire*, 1(1).
- Ignatov, A. A., & Romanov, Y. A. (1976). Nonlinear electromagnetic properties of semiconductors with a superlattice. *physica status solidi (b)*, 73(1), 327-333.

K

- Khattab, H. A. (2012). Effect of Ginkgo biloba leaves aqueous extract on carbon tetrachloride induced acute hepatotoxicity in rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*, 48(1), 483-495.

L

- Le Corvoisier, P., Lopes, M. E., Su, J., & Hittinger, L. (2000). Rôle du monoxyde d'azote dans l'insuffisance cardiaque. *Journal de la Société de Biologie*, 194(3-4), 143-149.

M

- M. Sidi SIBY. (2008) . Étude de la variation des paramètres biochimiques et hématologiques dans le district de bamako, Université de bamako faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto-stomatologie.
- M. Sidi Siby. (2008). Étude de la variation des paramètres biochimiques et hématologiques dans le district de Bamako de l'université de Bamako.
- Marzouki L, Soltane S, Zghal N, Azri C, et Medhioub K. (2000). Effets de la pollution chimique sur la santé : exemple de l'usine A5MIDAL (Algérie) Health effects of chemical pollution : case-study in Algeria).
- Massion, P., Preiser, J. C., & Balligand, J. L. (2002). Les espèces réactives de l'azote: bénéfiques ou délétères?. Nutrition clinique et métabolisme, 16(4), 248-252.
- Mingeon, C. (2014). La place de la phytothérapie dans la prise en charge de l'insuffisance veineuse: étude de six plantes médicinales.
- Mitra, S., & Altit, G. (2023). L'utilisation du monoxyde d'azote inhalé chez les nouveau-nés. Paediatrics & Child Health, 28(2), 123-127.
- Mullaicharam Bhupathyraaj.2013. A Review on Evidence Based Practice of Ginkgo biloba in Brain Health-International Journal of Chemical and Pharmaceutical Analysis. PP : 24-30.

N

- N. Bonnard, M.T Brondeau, D. Jargot, D. Lafon, F. Marc, S. Miraval, N. Nikolova-Pageau, S. Robert, O. Schneider. avec la collaboration de N. Carabin et V. Matera. 2021. Nitrite de sodium Fiche toxicologique n° 169.
- Nie M, Li Z. [Bioprocess of nitrite accumulation in water - a review]. Sheng Wu Gong Cheng Xue Bao. 2020 Aug 25;36(8):1493-1503. Chinese. doi: 10.13345/j.cjb.190578. PMID: 32924348.
- Norbert. Lfrah et Marc. Maynadié. Société française d'hématologie, Hématologie, 3^{ème} édition, Elsevier Masson, Mai 2018, 379p.

O

- Ouedraogo, M.T. (2001). Paramètres biochimiques d'intérêt biomédical : Etude comparative chez la femme enceinte et la femme non enceinte au Centre Hospitalier National Yalgado Ouédraogo (C.H.N.Y.O) et au Centre Médical Saint Camille de Ouagadougou de l'université de ouagadougou, unité de formation et de recherche des sciences de la santé (UFR/ SDS).

- OUEDRAOGO, Malika Toussida. (2001). parametres biochimiques d'interet biomedical. Etude comparative chez la femme enceinte et la femme non enceinte au Centre Hospitalier National Yalgado Ouédraogo (C.H.N.Y.O) et au Centre Médical Saint Camille de Ouagadougou, UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU Unité de formation et de Recherche des Sciences de la Santé (UFRISDS).

P

- Perret, D. (2002). Indice de distribution des globules rouges (IDR) chez le chien : analyse des résultats obtenus avec deux automates d'hématologie le MS9 et le Vet-ABC (Doctoral dissertation).
- Peyrot, F. (2004). Réactions des espèces réactives de l'azote dérivées du monoxyde d'azote avec la mélatonine et quelques indoles apparentés. Implications biologiques (Doctoral dissertation, Université Paris XI).

S

- S Mongi, Mahfoud, M., Amel, B., Kamel, J. and Abdelfattah, E., 2011. Protective effects of vitamin C against haematological and biochemical toxicity induced by deltamethrin in male Wistar rats. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 74(6), pp.1765-1769.
- Sabry, S., & Dinh-Xuan, A. T. (1996). Le monoxyde d'azote: un médiateur ubiquitaire. *Archives de pédiatrie*, 3, S275-S277.
- Salama, M. F., Abbas, A., Darweish, M. M., El-Hawwary, A. A., & Al-Gayyar, M. M. H. (2013). Hepatoprotective effects of cod liver oil against sodium nitrite toxicity in rats. *Pharmaceutical Biology*, 51(11), 1435–1443. <https://doi.org/10.3109/13880209.2013.796564>.
- Savard, S. (2005). Étude de la surexpression in vivo de la monoxyde d'azote synthase endothéliale chez le rat urémique.
- Scippo, M. L., Badot, P. M., Bornert, G., Desriac, N., Dubois-Brissonnet, F., Escobar-Gutiérrez, A., ... & Darney, K. (2022). Évaluation des risques liés à la consommation de nitrates et nitrites (Doctoral dissertation, Anses).
- Sherif, I. O., & Al-Gayyar, M. M. (2015). Cod liver oil in sodium nitrite induced hepatic injury: does it have a potential protective effect?. *Redox Report*, 20(1), 11-16.

- Sierpina, V. S., Wollschlaeger, B., & Blumenthal, M. (2003). Ginkgo biloba. American family physician, 68(5), 923-926.
- Singh B, Kaur P, Gopichand, et al. (2008). Biology and chemistry of Ginkgo biloba. Fitoterapia. 79(6) Pp : 401–18.

U

- Ude, C., Schubert-Zsilavec, M., & Wurglics, M. (2013). Ginkgo biloba extracts: a review of the pharmacokinetics of the active ingredients. Clinical pharmacokinetics, 52, 727-749.

V

- Van Beek, T. A., & Montoro, P. (2009). Chemical analysis and quality control of Ginkgo biloba leaves, extracts, and phytopharmaceuticals. Journal of chromatography A, 1216(11), 2002-2032.
- Vandjiguiba Diaby. Etudes biochimique, hématologique et histologique du sulfate de cadmium chez les rats WISTAR. Environnement et Société. UNIVERSITE FELIX HOUPHOUET BOIGNY, 2017. Français. ffNNT : ff. Fftel-02437288f.

Z

- Zitouni, S., & Zahaf, M. M. (2020). Effet anti-tumoral de l'extrait des graines de Lepidium sativum L. sur des souris soumises à un régime riche en nitrite de sodium.

Référence webographie :

- <https://www.toxiplante.fr/monographies/ginkgo.html>.

A decorative border with a repeating pattern of stylized, symmetrical floral or scrollwork motifs, framing the central text.

Annexe

Explication des termes scientifiques :

Numération et formule sanguine (FNS) :

Numération formule sanguine ou l'hémogramme, c'est le 1^{er} test biologique utilisé pour détecter, tester et surveiller les hémopathies, largement automatisé (utilise une machine pour compter les cellules). Cette technique est basée sur l'utilisation des échantillons du sang obtenu à partir d'une ponction veineuse placée dans un tube EDTA, il n'est pas obligatoire les patients soient à jeun. Elle fournit des informations qualitatives et quantitatives sur les cellules du sang (**Norbert et Marc, 2018**).

Les paramètres déterminés sont :

❖ Globules blancs :

Les globules blancs (les leucocytes) sont des cellules caractérisées par la mobilité, contiennent tous les organites principales et impliquées dans la défense immunitaire (**Sidi SIBY, 2008**).

❖ Lymphocytes :

Les lymphocytes sont des cellules principales d'immunité, au niveau du sang sa forme est un peu variable, sont des cellules de petite taille avec des noyaux ronds et des quantités variables du cytoplasme parfois avec des granules azurophiles, et sont deux types lymphocytes B et lymphocytes T (**Norbert et Marc, 2018**).

❖ Monocytes :

Les monocytes sont les cellules sanguines les plus grandes, sont fabriqués dans la moelle en raison de leur capacité d'expansion lors de la fabrication des frottis sanguins. Grâce à des granulations lysosomales, il est capable d'éliminer des bactéries par phagocytose, avec un contenu très similaire à celui des polynucléaires neutrophiles. Au début de la réponse immunitaire, ils présentent les antigènes aux lymphocytes T et sécrètent de nombreuses cytokines qui jouent un rôle dans l'inflammation et la réponse immunitaire (**Norbert et Marc, 2018**).

❖ **Granulocytes :**

Les granulocytes sont répartis en 3 sous-catégories de cellules, qui ont été définies en fonction de leur capacité à absorber des colorants basiques, neutres ou acides : les basophiles, les neutrophiles et les éosinophiles. Les basophiles sont les granulocytes les moins nombreux. Ils contiennent de l'histamine, nécessaires aux réactions allergiques (**Gigan, 2023**).

❖ **Globules rouges :**

Les globules rouges sont des cellules qui ne possèdent pas un noyau et des organites, contiennent l'hémoglobine, ont une forme arrondie et biconcave, elles sont responsables du transport d'O₂ vers tout le corps (**Sidi SIBY, 2008**).

❖ **Hémoglobine (HB) :**

L'hémoglobine est formée de 4 chaînes de globines liées deux à deux et fixent 4 molécules de l'hème, son rôle fondamental est de transporter l'O₂, NO et environ 40% de CO₂ des différents tissus vers les poumons (**Norbert et Marc, 2018**).

❖ **Hématocrite (HT) :**

Il s'agit de la répartition (exprimée en %) des globules rouges par rapport au plasma, la quantité de globules blancs et de plaquettes ne rentrant pas en ligne de compte car en quantité très petite (**Diaby, 2017**).

❖ **Le volume globulaire moyen (VGM) :**

Le volume globulaire moyen est mesuré par les automates ou par le rapport entre l'hématocrite et le nombre d'hématies (**Norbert et Marc, 2018**).

VGM = Hématocrite/Nombre des G rouges par litre et qui s'exprime en micromètres cube

❖ **La teneur globulaire moyenne en hémoglobine (TGMH) :**

La TGMH représente la quantité de l'hémoglobine dans les globules rouges, calculée en divisant la valeur de concentration d'hémoglobine par le nombre des GR (**Norbert et Marc, 2018**).

❖ **La concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine (CCMH) :**

La CCMH c'est la concentration moyenne d'hémoglobine dans les globules rouges, calculée par division de la concentration d'hémoglobine par la valeur d'hématocrite (**Norbert et Marc, 2018**).

❖ **L'indice de distribution des globules rouges (IDR) :**

L'IDR est l'indice de distribution des hématies ou index d'anisocytose. Les automates mesurant le volume de chaque globule rouge, ils donnent la distribution du volume des hématies et produisent ainsi une évaluation quantitative de l'anisocytose : c'est l'IDR ; alors que l'examen du frottis sanguin, lui donne une approche du diamètre des globules rouges.

L'IDR correspond au coefficient de variation du volume des hématies chez un individu. La façon de le calculer varie avec les appareils (**Perret, 2002**).

❖ **Les plaquettes (PLA) :**

Les plaquettes également connues sous le nom de thrombocytes. Il s'agit de cellules très petites de 2 à 4 μm de diamètre, avec seulement quelques granulations colorées. Le rôle principal de l'hémostase primaire est joué par les plaquettes. Les plus avancés des compteurs électroniques permettent de prendre en compte en même temps les taux de globules rouges, de globules blancs et de plaquettes (**Sidi Siby, 2008**).

❖ **Volume plaquettaire moyen (VPM) :**

Le VPM demeure une valeur moyenne. Certaines plaquettes peuvent être vues au microscope tout en étant écartées de l'analyse par un automate. Effectivement, les plaquettes trop petites ou trop grandes ne sont pas incluses dans la plage des valeurs de référence du VPM. Par ailleurs, certaines grandes plaquettes peuvent être confondues avec des érythrocytes, et inversement, certains petits globules rouges peuvent être confondus avec des plaquettes.

❖ **Thrombocrite (THT) :**

Il est exprimé en % ou en l/l. En général sa valeur reste inférieure à 1%. Les valeurs de références du thrombocrite sont devenues fiables avec l'arrivée de nouveaux automates d'analyse au milieu des années 2000. Le thrombocrite est calculé à partir du VPM et de la numération plaquettaire. De ce fait, une erreur de comptage plaquettaire due à la présence de petites ou grandes plaquettes peut modifier le thrombocrite (**Cheriet et Berbara, 2019**).

❖ L'indice de distribution plaquettaire (IDP) :

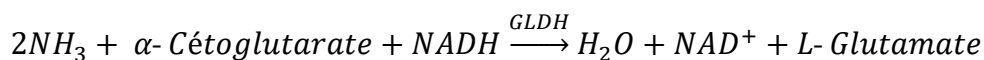
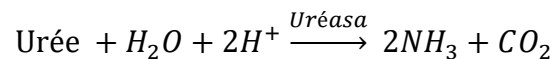
L'indice de distribution plaquettaire indique le degré de variation de la taille des plaquettes (Gasnier, 2023).

5.4. Analyses des paramètres biochimique :

❖ Urée :

L'urée sanguine, représente la forme d'élimination de l'azote aminé chez l'homme. L'accroissement de son taux dans le plasma est un signe de baisse d'élimination par les reins en déficience fonctionnelle (Ouedraogo, 2001).

L'uréase catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH₃) et en anhydride carbonique (CO₂). L'ammoniac formé est incorporé à l' α -cétoglutarate par l'action du glutamate déshydrogénase (GLDH) avec oxydation parallèle de la NADH à la NAD⁺ :



La diminution de la concentration de NAD⁺ dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé

❖ Créatinine :

La créatinine dans l'organisme provient de la dégradation de la créatine qui est d'une part contenue dans l'alimentation d'autre part produite par l'organisme (principalement localisée dans les muscles). La créatinine est exclusivement éliminée par les reins, ce qui en fait un très bon marqueur de la fonction rénale (Sidi Siby, 2008).

Le test de la créatinine est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate sodium décrit par Jaffé. La créatinine réagit avec le picrate alcalin en formant un complexe de couleur rouge. L'intervalle de temps choisi pour les lectures permet d'éliminer une grande partie des interférences connue pour la méthode. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon testé

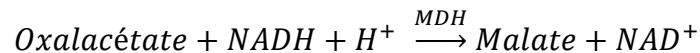
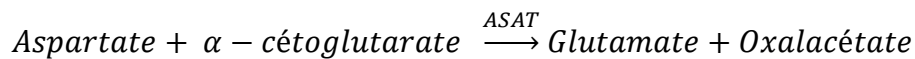
❖ Les transaminases :

Les transaminases sont des enzymes essentiels dans le corps, responsables de transfert des groupes amines lors de certains processus au niveau du foie, le mesure de ces paramètres indique le fonctionnement de foie, qui sont : le TGO et TGP (Sidi SIBY, 2008).

✓ Glutamate-oxaloacetate-transaminase (TGO) :

Asparagine Amino-Transférase (ASAT) : appelé aussi Glutamate Oxaloacétique Transaminase (TGO), retrouvé principalement au niveau du pancréas, le foie, le cœur et en moins quantités dans les muscles et les reins (DIABY Vandjiguiba, 2017).

Il catalyse le transfert réversible d'un groupe animique de l'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et d'oxalacétate. L'oxalacétate produit et réduit en malate en présence de déshydrogénées (MDH) et NADH :

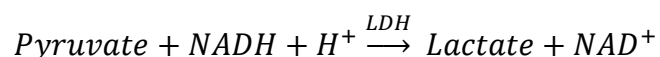
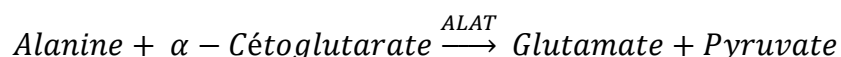


La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photo numériquement, est proportionnelle à la concentration d'ASAT dans l'échantillon

❖ Glutamate-pyruvate-transaminase (TGP) :

Alanine Amino-transférase (ALAT) : appelé aussi Glutamate Pyruvate Transaminase (TGP), généralement il est trouvé dans le foie mais aussi dans les poumons, le cœur, la rate, les reins et muscle squelettique (Sidi SIBY, 2008).

Il catalyse le transfert réversible d'un groupe animique d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogénase (LDH) et NADH :

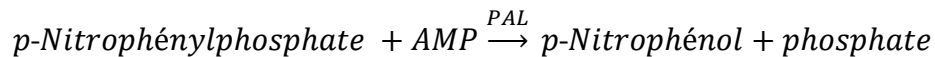


La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photométriquement est proportionnelle à la concentration d'ALAT dans l'échantillon

❖ **Phosphatases alcalines (PAL) :**

Les phosphatases alcalines sont des enzymes présentes pratiquement dans tout l'organisme surtout dans le foie et les os. En cas de suspicion d'atteinte de ces organes, le dosage des phosphatases alcalines oriente le diagnostic et permet de surveiller l'efficacité du traitement (**Sidi Siby, 2008**).

La phosphatase alcaline (PAL) catalyse le transfert du groupe phosphate depuis le p-nitrophénylphosphate (pNPP) vers le 2-amino-méthyle-1- propanol en libérant du p-nitrophénol et du phosphate, selon la réaction suivante :

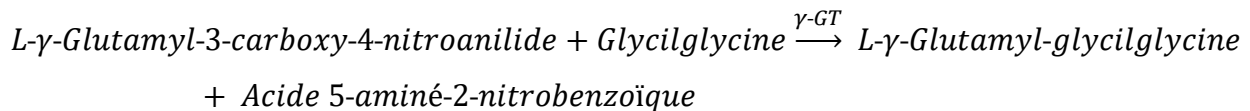


La vitesse de formation du p-Nitrophénol, déterminé de manière photométrique est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon testé

❖ **Gamma glutamyl transférase (GGT) :**

Les gammas glutamyl transférase sont des enzymes qui participent au métabolisme des acides aminés. Ils sont présents dans le foie, le rein, et le pancréas (**Sidi Siby, 2008**).

La gamma-glutamyl transférase (γ -GT) catalyse le transfert d'un groupe γ -glutamyl de la γ -glutamyl-p-nitroanilide au dipeptide accepteur glycylglycine, d'après la réaction suivante :

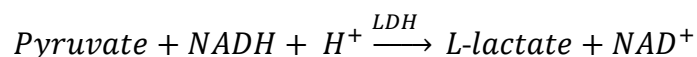


La vitesse de formation de l'acide 5-aminé-2-nitrobenzoïque déterminé par photométrie est proportionnelle à la concentration catalytique de γ -GT dans l'échantillon testé

❖ **Lactate Deshydrogénase (LDH) :**

Est un enzyme composé de 2 sous-unités : H (heart) et M (muscle), retrouvé dans tous les types des tissus (**OUEDRAOGO M T, 2001**).

Il catalyse la réduction de pyruvate par le NADH, selon la réaction suivante :

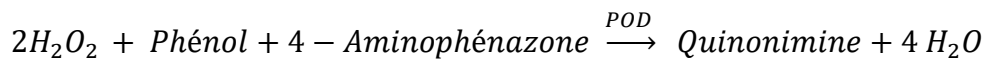
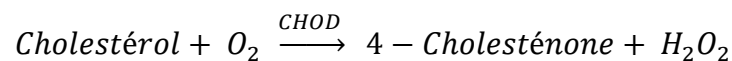
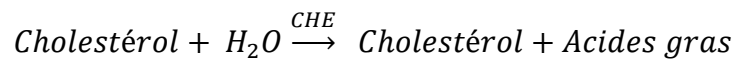


❖ Cholestérol total :

Deux sources principales de cholestérol sanguin existent : une source externe avec l'alimentation régulière et une source interne avec la production de cholestérol par le foie.

Le cholestérol se trouve sous deux formes dans le sang. Le cholestérol libre présent dans les hématies et dans le plasma est identique, tandis que le cholestérol estérifié est retrouvé dans le plasma après une estérification dans le foie. Le cholestérol a été décrit comme une substance qui se trouve au carrefour de la production d'hormones stéroïdiennes comme la testostérone, la progestérone, l'œstradiol, le cortisol, etc (**Diaby, 2017**).

Le cholestérol présent dans l'échantillon donne lieu à un composé coloré, suivant la réaction suivante :



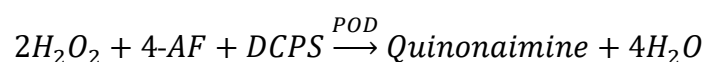
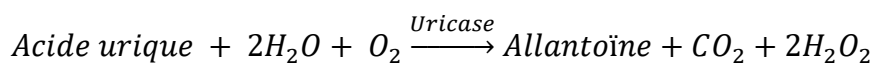
L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol présent dans l'échantillon testé

❖ Acide urique :

L'acide urique est une substance physiologique. Il est produit par le foie et est le résultat final du métabolisme des bases puriques, qu'elles soient endogènes ou exogènes.

Selon les conditions du milieu, l'acide urique peut être sous deux formes : la forme moléculaire ou la forme ionisée plus communément appelée urate

L'acide urique est oxydé par l'uricase à l'allantoïne et le peroxyde d'hydrogène (2H₂O₂) qui, en présence de la peroxydase (POD), 4-aminophénazone (4-AF) et du 2-4 Diclorophénolsulphonate (DCPS) forme un composé rosacé :



L'intensité de quinonimine rouge formée est proportionnelle à la concentration d'acide urique présente dans l'échantillon testé

❖ **Bilirubine totale :**

La bilirubine est une substance normalement présente dans l'organisme. Elle provient de la dégradation de l'hémoglobine (bilirubine libre). Puis elle est captée par le foie (bilirubine conjuguée) et dégradée. C'est la bilirubine qui est responsable de la jaunisse (**Sidi Siby, 2008**).

La bilirubine est transformée en azobilirubine au moyen de l'acide sulfanilique diazote, et se mesure par photométrie. Des deux fractions présentes dans le sérum, la bilirubine-glucuronide et la bilirubine libre associée à l'albumine, seule la première réagit en milieu aqueux (bilirubine directe). La deuxième ne réagit que par solubilisation avec du diméthylsulfoxyde (DMSO)- (bilirubine indirecte). Dans la détermination de la bilirubine indirecte, on détermine également la directe, le résultat correspondant à la bilirubine totale. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de bilirubine présente dans l'échantillon testé

❖ **Bilirubine directe :**

Est un produit de conjugaison de la bilirubine et l'acide glucuronique, elle est hydrosoluble et éliminée par la voie biliaire.

La bilirubine est transformée en azobilirubine au moyen de l'acide sulfanilique diazote, et se mesure par photométrie. Des deux fractions présentes dans le sérum, la bilirubine-glucuronide et la bilirubine libre associée à l'albumine, seule la première réagit en milieu aqueux (bilirubine directe). La deuxième ne réagit que par solubilisation avec du diméthylsulfoxyde (DMSO)- (bilirubine indirecte). Dans la détermination de la bilirubine indirecte, on détermine également la directe, le résultat correspondant à la bilirubine totale. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de bilirubine présente dans l'échantillon testé

❖ **Protéine totale :**

Les protéines, également appelées protides, sont des grandes molécules constituées par une succession des acides aminés liés par des liaisons peptidiques, jouent un rôle très important dans le transport, la catalyse, la reconnaissance, signalisation et la communication (**Sidi SIBY, 2008**).

En milieu alcalin les protéines donnent une couleur violette/bleue en présence de sels de cuivre ; ces sels contiennent de l'iodure qui agit comme un antioxydant.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon testé

❖ **Albumine :**

L'albumine représente en fait plusieurs molécules qui ont des propriétés identiques. Elle représente plus de la moitié des protéines de l'organisme. C'est elle qui permet par son pouvoir oncotique de retenir l'eau dans le secteur intra vasculaire (dans le sang) (**Sidi Siby, 2008**).

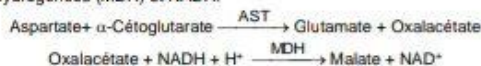
L'albumine se combine au vert de bromocrésol, à pH légèrement acide, entraînant un changement de couleur de l'indice, passant du jaune-vert au vert-bleuté, et proportionnel à la concentration d'albumine présente dans l'échantillon testé

Détermination quantitative d'aspartate amino transférase GOT (AST) IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'aspartate amino transférase (AST), initialement appelée transaminase glutamate oxaloacétique (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminique de l'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et d'oxalacétate. L'oxalacétate produit est réduit en malate en présence de déshydrogénases (MDH) et NADH:



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photo numériquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'AST dans l'échantillon¹.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'AST est une enzyme intracellulaire, qui se trouve en grandes quantités dans les muscles du cœur, les cellules du foie, les cellules du muscle squelettique et en plus faibles quantités dans les autres tissus.

Bien qu'un niveau élevé d'AST dans le sérum ne soit pas caractéristique d'une maladie hépatique, elle s'emploie principalement pour les diagnostics et le suivi, avec d'autres enzymes telles que l'ALT et l'ALP. Elle s'utilise également dans le cadre du contrôle post-infarctus, chez les patients souffrant de troubles musculaires du squelette et dans certains autres cas^{1, 4, 5}.

Le diagnostic clinique doit être réalisé en prenant en compte les données cliniques et les données de laboratoire.

REACTIFS

R 1	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
Tampon	L-aspartate	200 mmol/L
	NADH	0,18 mmol/L
R 2	Lactate déshydrogéné (LDH)	800 U/L
Substrats	Malate déshydrogéné (MDH)	600 U/L
	α -cétoglutarate	12 mmol/L

PREPARATION

Réactif de travail (RT):

Réf: 1001160 Dissoudre (→) une tablette de substrats R2 dans une dose (ampoule) R1.

Réf: 1001161 Dissoudre (→) une tablette de substrats R2 dans 15 mL de R1.

Réf: 1001162 Dissoudre (→) une tablette de substrats de R2 dans 50 mL de R1.

Refermer et mélanger doucement, jusqu'à ce que le contenu soit totalement dissout.

Stabilité: 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à température ambiante (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination.

Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée. Ne pas utiliser les tablettes si elles sont fragmentées.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption du blanc à 340 nm < 1,00.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 340 nm.
- Bain thermostable à 25°C, 30°C et 37°C ($\pm 0,1^\circ\text{C}$)
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

 Sérum ou plasma¹. Stabilité de l'échantillon: 7 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
 - Longueur d'ondes: 340 nm
 - Cuvette: 1 cm d'éclairage
 - Température: 25°C/30°C/37°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée ou air.
- Pipetter dans une cuvette:

RT (mL)	1,0
Echantillon (μL)	100
- Mélanger et incuber pendant 1 minute

- Lire l'absorption (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorption à chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorption par minute ($\Delta A/\text{min}$).

CALCULS

$$\Delta A/\text{min} \times 1750 = \text{U/L de AST}$$

Unités: L'unité internationale (UI) correspond à la quantité d'enzymes qui convertit 1 μmol de substrats par minute, dans des conditions standard. La concentration est exprimée en unité/litre (U/L).

Facteurs de conversion de températures

Les résultats peuvent se transformer à d'autres températures, en multipliant par:

Température de mesure	Facteur de conversion à		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,37	2,08
30°C	0,73	1,00	1,54
37°C	0,48	0,65	1,00

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE¹

	25°C	30°C	37°C
Hommes	Jusqu'à 19 U/L	26 U/L	38 U/L
Femmes	Jusqu'à 16 U/L	22 U/L	31 U/L

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection 0 U/L jusqu'à la limite de linéarité 360 U/L.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité diluer 1/10 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 10.

Précision:

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
Moyenne (U/L)	55,5	165	55,0	162
SD	1,30	3,44	0,92	2,52
CV (%)	2,35	2,07	1,68	1,55

Sensibilité analytique: 1 U/L = 0,00051 $\Delta A/\text{min}$

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r^2): 0,98277.

Equation de la Courbe de régression: $y = 0,9259x - 5,1685$.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Les anticoagulants à utilisation courante tels que l'héparine, l'EDTA oxalate ou le fluorure n'ont aucune incidence sur les résultats. L'hémolyse interfère avec les résultats¹.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de l'AST^{2, 3}.

REMARQUES

SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Murray R. Aspartate aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984: 1112-116.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001160	Cont.	R1: 20 x 2 mL, R2: 20 → 2 mL
Ref: 1001161		R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL
Ref: 1001162		R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL





GPT (ALT)-LQ

GPT (ALT)

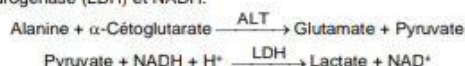
NADH. Cinétique UV. IFCC rec. liquide

**Détermination quantitative d'alanine amino transférase
GPT (ALT)
IVD**

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'alanine amino transférase (ALT) initialement appelée transaminase glutamique pyruvique (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminique d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate à formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de lactate déshydrogénase (LDH) et NADH:



La vitesse de réduction de la concentration en NADH au centre, déterminée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALT dans l'échantillon¹.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'ALT est une enzyme intracellulaire, qui se trouve principalement dans les cellules du foie et des reins.

Son meilleur avantage est le diagnostic de maladies du foie.

On l'observe en grandes quantités dans le cadre de maladies hépatiques, telles que l'hépatite, les maladies du muscle et des infarctus du cœur, étant donné que la valeur de l'ALT reste dans les limites standards et augmente dans les niveaux de AST^{1, 4, 5}.

La diagnostique clinique doit être réalisée en prenant en compte les données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R 1	TRIS pH 7,8	100 mmol/L
Tampon	Lactate déshydrogénase (LDH)	1200 U/L
	L-Alanine	500 mmol/L
R 2	NADH	0,18 mmol/L
Substrats	α-Cétoglutarate	15 mmol/L

PRECAUTIONS

R1 : H290- Peut être corrosif pour les métaux.

Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

PREPARATION

Réactif de travail (RT):

Mélanger: 1 vol. de (R2) Substrats + 4 vol. (R1) Tampon.

Stabilité: 21 jours à 2-8°C ou 72 heures à température ambiante (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption du blanc à 340 nm < 1,00.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 340 nm.
- Bain thermostable à 25°C, 30°C ou 37°C (± 0,1°C)
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma¹. Stabilité de l'échantillon: 7 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 340 nm
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 25°C/30°C/37°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée ou air.
- Pipetter dans une cuvette:

RT (mL)	1,0
Echantillon (μL)	100
- Mélanger et incuber pendant 1 minute
- Lire l'absorption (A) initiale de l'échantillon, mettre en route le chronomètre et lire l'absorption à chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de l'augmentation d'absorption par minute (ΔA/min).

CALCULS

ΔA/min x 1750 = U/L d'ALT

Unités: L'unité internationale (UI) correspond à la quantité d'enzymes qui convertit 1 μmol de substrats par minute, dans des conditions standard. La concentration est exprimée en unité/litre (U/L).

Facteurs de conversion de températures

Les résultats peuvent se transformer à d'autres températures, en multipliant par:

Température de mesure	Facteur de conversion à		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,32	1,82
30°C	0,76	1,00	1,39
37°C	0,55	0,72	1,00

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE^{4, 5}

	25°C	30°C	37°C
Hommes	Jusqu'à 22 U/L	29 U/L	40 U/L
Femmes	Jusqu'à 18 U/L	22 U/L	32 U/L

Chez les nouveau-nés en bon état de santé, on a détecté des valeurs presque doublées par rapport à celle relevées chez les adultes, état donné leur maturité hépatique, ces valeurs redeviennent normales dans les trois mois.

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0 U/L, jusqu'à la limite de linéarité de 400 U/L.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/10 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 10.

Précision:

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
Moyenne (U/L)	42,0	116	41,1	115
SD	0,47	0,42	0,76	1,61
CV (%)	1,11	0,36	1,85	1,40

Sensibilité analytique: 1 U/L = 0,00052 ΔA/min

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r)²: 0,99597.

Equation de la Courbe de régression: y=1,1209x + 1,390.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Les anticoagulants à utilisation courante tels que l'héparine, l'EDTA oxalate ou le fluorure n'ont aucune incidence sur les résultats. L'hémolyse interfère avec les résultats¹.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de l'ALT^{2, 3}.

REMARQUES

SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Murray R. Alanine aminotransferase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1088-1090.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed. AACC 2001.
- Burtis A. et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd edition. AACC 1999.
- Tietz N. W. et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. AACC 1995.

PRESENTATION

Ré: 41280		R1: 1 x 60 mL R2: 1 x 15 mL
Ré: 41282	Cont.	R1: 1 x 240 mL R2: 1 x 60 mL
Ré: 41283		R1: 1 x 480 mL R2: 1 x 120 mL





ALP (IFCC)

Phosphatase alcaline

p-Nitrophénylphosphate. Cinétique. AMP buffer (IFCC)

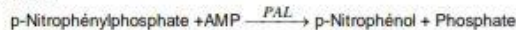
Détermination quantitative de phosphatase alcaline (PAL) IVD

A conserver entre 2-8°C

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

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

La phosphatase alcaline (PAL) catalyse le transfert du groupe phosphate depuis le p-nitrophénylphosphate (pNPP) vers le 2-amino-méthyle-1-propanol en libérant du p-nitrophénol et du phosphate, selon la réaction suivante :



La vitesse de formation du p-Nitrophénol, déterminé de manière photométrique est proportionnelle à la concentration catalytique de phosphatase alcaline dans l'échantillon testé^{1,2}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Les phosphatases alcalines sont des enzymes qui sont présentes dans presque tous les tissus de l'organisme, en étant particulièrement élevées dans les os, le foie, le placenta, les intestins et les reins.

Aussi bien l'augmentation que la diminution des niveaux dans le plasma, ont une signification clinique.

Les causes probables d'augmentation du niveau de PAL :

Maladie osseuse de Paget, obstructions hépatiques, hépatite, hépatotoxicité par médicaments et ostéomalacie.

Les causes les plus probables de diminution du niveau de PAL :

Crétinisme et déficit en vitamine C^{1,5,6}.

Le diagnostic clinique doit être réalisé en tenant compte de toutes les données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R 1 Tampon	2-Amino-2-méthyle-1-propanol	0,35 mol/L
	Zinc sulfate	1 mmol/L
	Acétate de magnésium	2 mmol/L
	N-acide hydroxyéthyl éthylène diamine tétra-acétique (EDTA)	2 mmol/L
R 2 Substrat	p-Nitrophénylphosphate (pNPP)	10 mmol/L

PRÉPARATION

Réactif de travail (RT) :

Mélanger : 1 vol. de (R2) substrat + 4 vol. (R1) Tampon.

Stabilité : 21 jours à 2-8°C ou 5 jours à température ambiante (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITÉ

Toutes les composantes du kit sont stables jusqu'à l'expiration de la date mentionnée sur l'étiquette en cas de conservation hermétique sous 2-8°C et de protection contre la lumière et les contaminations évitées lors de leur utilisation.

Ne pas congeler.

Ne pas utiliser les tablettes si elles apparaissent fragmentées.

Ne pas utiliser de réactifs en dehors de la date indiquée.

Indicateurs de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbance (A) du témoin à 405 nm > 1,50.

ÉQUIPEMENTS SUPPLÉMENTAIRES

- Spectrophotomètre ou colorimètre mesurant 405 nm.
- Bain thermostatable à 25°C, 30°C ou 37°C (± 0,1°C)
- Cuves appariées de 1.0 cm d'éclairage.
- Équipement d'usage général pour laboratoire.

ÉCHANTILLONS

Sérum ou plasma héparinisé¹.

Sérum sans hémolyse, séparé des hématies dès que possible.

Stabilité : 3 jours à 2-8°C.

PROCÉDURE

- Conditions d'essai:
 - Longueur d'onde: 405 nm
 - Cuvette: 1 cm. d'éclairage.
 - Température 25°C/ 30°C/ 37°C
- Régler l'instrument à zéro dans l'eau distillée ou l'air.
- Pipette dans une cuvette:

RT (mL)	1,0
Echantillon (µL)	20

- Mélanger et incubé 1 minute.
- Lire l'absorbance (A) initiale de l'échantillon, mettre le chronomètre en marche et lire l'absorbance chaque minute pendant 3 minutes.
- Calculer la moyenne de la différence d'absorbance par minute (ΔA/min).

CALCULS

ΔA/min x 2764 = U/L de FAL

Unités : L'unité internationale (UI) est la quantité d'enzyme qui convertit 1 µmol de substrat par minute, dans des conditions standards. La concentration est exprimée en unités par litre (U/L).

Facteurs de conversion de températures

Les résultats peuvent se transformer à d'autres températures en multipliant par :

Température de mesure	Facteur pour convertir à		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,22	1,64
30°C	0,82	1,00	1,33
37°C	0,61	0,75	1,00

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il convient d'analyser des sérums de contrôle estimés en même temps que les échantillons : SPINROL H normal et pathologique (réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs trouvées sont en dehors de la gamme de tolérance, il faut réviser l'instrument, les réactifs et la technique.

Chaque laboratoire doit établir son propre système de contrôle de qualité et des actions correctives au cas où les contrôles n'atteignent pas les tolérances acceptables.

VALEURS DE RÉFÉRENCE¹

	25°C	30°C	37°C
Adultes	17 - 77 U/L	21 - 94 U/L	26 - 117 U/L

Les facteurs qui peuvent affecter les valeurs de référence sont : exercice, périodes de croissance chez les enfants et pendant la grossesse.

Ces valeurs sont orientatives. Il est conseillé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE

Gamme de mesure: de la limite de la détection de 1,307 U/L à la limite de linéarité de 1400 U/L.

Précision:

Moyenne (U/L)	Intra-essai (n= 20)		Inter-essai (n= 20)	
	SD	CV (%)	78	209
73	1,67	2,27	2,13	4,90
194	3,03	1,58	2,72	2,34

Sensibilité analytique: 1 U/L = 0,0004 ΔA/min.

Exactitude: les résultats obtenus en utilisant les réactifs SPINREACT n'ont pas présenté de différences systématiques en comparaison avec d'autres réactifs commerciaux.

Les résultats obtenus sur 50 échantillons ont été les suivants :

Coefficient de régression (r) : 0,98929.

Équation de la droite de régression : y=2,214x + 2,131.

Les résultats des caractéristiques de la méthode dépendent de l'analyseur utilisé.

INTERFÉRENCES

Le fluorure, oxalate, citrate et EDTA inhibent l'activité de la phosphatase alcaline, ils ne doivent donc pas être utilisés comme anticoagulants.

L'hémolyse interfère en raison de la forte concentration de phosphatase alcaline dans les hématies^{1,2}.

NOTES

SPINREACT dispose d'instructions détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Wenger C. et al. Alkaline phosphatase. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1094-1098.
- Rosalki S et al. Clin Chem 1993; 39/4: 648-652.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.
- IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. J.Clin.Chem.Clin.Biochem. 1983; 21: 731-748.

PRÉSENTATION

Réf : 41245	R1 : 1 x 60 mL
	R2 : 1 x 15 mL
Réf : 41246	R1 : 1 x 240 mL
	R2 : 1 x 60 mL

BEIS01-F 19/03/15



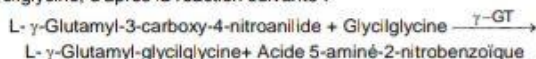
SPINREACT, S.A./S.A.U. Ctra.Santa Coloma, 7 E-17176 SANT ESTEVE DE BAS (GI) SPAIN
Tel. +34 972 69 00 00 Fax +34 972 69 00 99. e-mail: spinreact@spinreact.com

Détermination quantitative de gamma-glutamyl transférase (γ-GT) IVD

A conserver entre 2-8°C

PRINCIPE DE LA MÉTHODE

La gamma-glutamyl transférase (γ-GT) catalyse le transfert d'un groupe γ-glutamyl de la γ-glutamyl-p-nitroanilide au dipeptide accepteur glycyglycine, d'après la réaction suivante :


 La vitesse de formation de l'acide 5-aminé-2-nitrobenzoïque déterminé par photométrie est proportionnelle à la concentration catalytique de γ-GT dans l'échantillon testé^{1,2}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La gamma-glutamyl transférase (γ-GT) est une enzyme qui est présente dans quasiment tous les tissus de l'organisme, elle apparaît notamment dans le foie, le pancréas, les reins et la prostate.

 La détermination des niveaux de gamma-glutamyl transférase (γ-GT) est la méthode la plus utile pour diagnostiquer et traiter les maladies hépatobiliaires telles que l'obstruction hépatique, la cirrhose ou les tumeurs hépatiques^{1,2,5,6}.

Le diagnostic clinique doit être réalisé en tenant compte de toutes les données cliniques et de laboratoire.

RÉACTIFS

R 1		
Tampon	TRIS pH 8,25	100 mmol/L
R 2		
Substrat	Glycylglycine L-γ-glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilide	100 mmol/L 3 mmol/L

PRÉPARATION

Réactif de travail (RT) :

Réf: 1001185

Dissoudre (→) un comprimé de R 2 Substrat dans un flacon de R 1 Tampon.

Réf: 1001186

Dissoudre (→) un comprimé de R 2 Substrat dans 15 mL de R 1 Tampon.

Réf: 1001187

Dissoudre (→) le contenu d'un flacon de R 2 Substrat dans 50 mL de R 1.

Couvrir et mélanger délicatement jusqu'à dissoudre son contenu.

Stabilité : 21 jours à 2-8°C ou 5 jours 15-25°C (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITÉ

Toutes les composantes du kit sont stables jusqu'à l'expiration de la date mentionnée sur l'étiquette en cas de conservation hermétique sous 2-8°C et de protection contre la lumière et les contaminations évitées lors de leur utilisation.

Ne pas utiliser les tablettes si elles semblent fragmentées.

Ne pas utiliser les réactifs une fois passée la date indiquée.

Indicateurs de détérioration des réactifs :

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbances du témoin à 405 nm $\geq 1,20$.

ÉQUIPEMENTS SUPPLÉMENTAIRES

- Spectrophotomètre ou colorimètre mesurant 405 nm.
- Bain thermostatable à 25°C, 30°C ou 37°C ($\pm 0,1^\circ\text{C}$)
- Cuves appariées de 1.0 cm de raie spectrale.
- Équipement d'usage général pour laboratoire.

ÉCHANTILLONS

 Sérum¹. La γ-GT est stable pendant 3 jours à 2-8°C, 8 heures à 15-25°C et 1 mois à -20°C.

PROCÉDURE

1. Conditions d'essai:

Longueur d'onde: 405 nm

Cuvette: 1 cm, de raie spectrale

Température constante 25°C / 30°C / 37°C

2. Régler l'instrument à zéro dans l'eau distillée ou air.

3. Pipette dans une cuvette:

RT (mL)	1,0
Échantillon (μL)	100

4. Mélanger, patienter 1 minute.

5. Lire l'absorbance (A) initiale de l'échantillon, mettre en marche le chronomètre et lire l'absorbance chaque minute pendant 3 minutes.

6. Calculer la moyenne de la différence d'absorbance par minute (ΔA/min).

CALCULS

$$\Delta A/\text{min} \times 1190 = \text{U/L de } \gamma\text{-GT}$$

Unités : L'unité internationale (UI) est la quantité d'enzyme qui convertit 1 μmol de substrat par minute, en conditions standard. La concentration est exprimée en unités par litre (U/L).

Facteurs de conversion de températures

Les résultats peuvent être transformés à d'autres températures en multipliant par :

Température de mesure	Facteur de conversion à		
	25°C	30°C	37°C
25°C	1,00	1,37	1,79
30°C	0,73	1,00	1,30
37°C	0,56	0,77	1,00

CONTRÔLE DE QUALITÉ

Il convient d'analyser des sérums de contrôle estimés en même temps que les échantillons: SPINROL H normal et pathologique (réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs obtenues se trouvent en dehors de la plage de tolérance, il faut revoir les instruments, les réactifs et la technique.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre système de contrôle de qualité et établir des actions correctives si les contrôles ne sont pas conformes aux tolérances.

VALEURS DE RÉFÉRENCE¹

	25°C	30°C	37°C
Femmes	4-18 U/L	5-25 U/L	7-32 U/L
Hommes	6-28 U/L	8-38 U/L	11-50 U/L

Ces valeurs sont approximatives. Il est recommandé que chaque laboratoire établisse ses propres valeurs de référence.

CARACTÉRISTIQUES DE LA MÉTHODE
Gamme de mesure: de la limite de la détection de 0,000 U/L à la limite de linéarité de 375 U/L.

Si les résultats obtenus sont plus élevés que la limite de linéarité, il faut diluer 1/10 avec ClNa 9 g/l et multiplier le résultat par 10.

Précision:

	Intra-essai (n= 20)		Inter-essai (n= 20)	
Moyenne (U/L)	40,0	199	41,6	200
SD	0,33	1,20	0,80	2,29
CV (%)	0,83	0,61	1,91	1,15

Sensibilité analytique: 1 U/L = 0,0008 ΔA/min.

Exactitude: les résultats obtenus en utilisant les réactifs SPINREACT n'ont pas présenté de différences systématiques en comparaison avec d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus sur 50 échantillons ont été les suivants :

Coefficient de régression (r) : 0,999.

 Équation de la droite de régression : $y=1,2253x - 2,0435$.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier en fonction de l'analyseur utilisé.

INTERFÉRENCES

 Ne pas utiliser de plasma. Les anticoagulants inhibent l'enzyme. L'hémolyse élevée interfère dans l'essai¹. Il a été rapporté que plusieurs drogues et autres substances interfèrent dans la détermination de la γ-GT^{3,4}.

NOTES
SPINREACT dispose d'instructions détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.
BIBLIOGRAPHIE

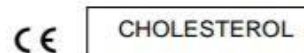
- Gendler S. γ-GT. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1120-1123.
- Persijn J P et al. J Clin Chem Clin Biochem 1976; (14) 9: 421-427.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACCC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACCC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACCC 1995.

PRÉSENTATION

 Réf: 1001185 Cont. R1: 20 x 2 mL, R2: 20 → 2 mL

 Réf: 1001186 Cont. R1: 1 x 150 mL, R2: 10 → 15 mL

 Réf: 1001187 Cont. R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL



Cholestérol

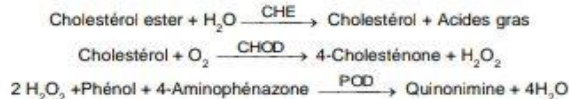
CHOD-POD. Enzymatique chlorimétrique

Détermination quantitative de cholestérol IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

Le cholestérol présent dans l'échantillon donne lieu à un composé coloré, suivant la réaction suivante:



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol présent dans l'échantillon testé^{1,2}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Le cholestérol est une substance grasse présente dans toutes les cellules de l'organisme. Le foie produit naturellement tout le cholestérol dont il a besoin pour former les membranes cellulaires et pour produire certaines hormones. La détermination du cholestérol est l'un des outils les plus importants pour diagnostiquer et classer les lipémies. L'augmentation du niveau de cholestérol est l'un des facteurs de risques cardiovasculaires possibles^{5,6}.

Le diagnostic clinique doit tenir compte des données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R 1	PIPES pH 6,9 phénol	90 mmol/L 26 mmol/L
R 2 (Remarque 2)	Cholestérol estérase (CHE) Cholestérol oxydase (CHOD) Peroxydase (POD) 4 - Aminophénazone (4-AF)	300 U/L 300 U/L 1250 U/L 0,4 mmol/L
CHOLESTEROL CAL	Patron primaire de détection du cholestérol 200 mg/dL. Contient Triton X-114 10-15%.	

PRÉCAUTIONS

CAL: H225- Liquide et vapeurs très inflammables. H318- Provoque des lésions oculaires graves. H412- Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

PRÉPARATION

Réactif de travail (RT): Dissoudre (→) le contenu d'une capsule d'enzymes R 2 dans un 1 flacon de tampon R 1. Refermer et mélanger doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout. Stabilité (RT): 4 mois au réfrigérateur (2-8°C) ou 40 jours à 15-25°C. Conserver à l'abri de la lumière.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbance (A) du blanc à 505 nm ≥ 0,1.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 505 nm (500-550).
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma^{1,2}: Stabilité de l'échantillon 7 jours à 2-8°C et 3 mois si l'échantillon est congelé (-20°C).

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 505 nm (500-550)
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 37°C/15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette (Remarque 4):

	Blanc	Étalon	Echantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon (Remarque 1,3) (µL)	--	10	--
Echantillon (µL)	--	--	10

- Mélanger et incuber pendant exactement 5 minutes à 37°C ou 10 min. à température ambiante.
- Lire l'absorbance (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 60 minutes.

CALCULS

$$\frac{(A) \text{Échantillon} - (A) \text{Blanc} \times 200 (\text{étalon conc.})}{(A) \text{Étalon} - (A) \text{Blanc}} = \text{mg/dL de cholestérol dans l'échantillon}$$

Facteur de conversion: mg/dL x 0,0258= mmol/L.

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE

Evaluation du risque^{5,6}:

Moins de 200 mg/dL	Normal
200-239 mg/dL	Modéré
≥ 240	Elevé

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CHARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 900 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du CINA 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

Moyenne (mg/dL)	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
	SD	CV (%)	SD	CV (%)
90,4	1,15	1,27	92,8	1,14
1,87	1,01	0,54	193	1,24

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,00152 A.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r)²: 0,99541.

Equation de la Courbe de régression: y=0,95293x - 3,020.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Aucune interférence d'hémoglobine n'a été constaté jusqu'à 5 g/L et bilirubine jusqu'à 10 mg/dL^{1,2}.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que des substances pouvant interférer dans la détermination du cholestérol^{3,4}.

REMARQUES

- CHOLESTEROL CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de le manipuler avec une grande précaution. En effet, il peut être contaminé avec facilité.
- LCF (Lipid Clearing Factor) intégré au réactif.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Naito H.K. Cholesterol. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1194-11206 and 437.
- Meiattini F. et al. The 4-hydroxybenzoate/4-aminophenazone Chromogenic System. Clin Chem 1978; 24 (12): 2161-2165.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001090	R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001091	R1: 10 x 20 mL, R2: 10 → 20 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001092	R1: 4 x 125 mL, R2: 4 → 125 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001093	R1: 4 x 250 mL, R2: 4 → 250 mL, CAL: 1 x 5 mL



Détermination quantitative d'urée IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'uréase catalyse l'hémolyse de l'urée, présente dans l'échantillon, en ammoniac (NH₃) et en anhydride carbonique (CO₂). L'ammoniac formé est incorporé à l'α-cétoglutarate par l'action du glutamate déshydrogénase (GLDH) avec oxydation parallèle de la NADH à la NAD⁺:



2 NH₃ + α-Cétoglutarate + NADH $\xrightarrow{\text{GLDH}}$ H₂O + NAD⁺ + L-Glutamate
La diminution de la concentration de NAD⁺ dans la méthode est proportionnelle à la concentration d'urée dans l'échantillon testé¹.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'urée est le résultat final du métabolisme des protéines; elle se forme dans le foie à partir de sa destruction. Il peut apparaître un taux d'urée élevé dans le sang (urémie) dans le cadre de régimes excessives en protéines, de maladies d'insuffisances cardiaques, d'hémorragies, d'hypovolémie et d'obstructions rénales^{1,4,5}. La diagnostique clinique doit tenir compte des données cliniques et des données de laboratoire.

REACTIFS

R 1	TRIS pH 7,8	80 mmol/L
Tampon	α-Cétoglutarate	6 mmol/L
R 2	Uréase	3750 U/L
Enzymes	Glutamate déshydrogénase (GLDH)	6000 U/L
	NADH	0,32 mmol/L
UREA CAL	Patron primaire de détection d'urée 50 mg/dL	

PREPARATION

Réactif de travail (RT): Dissoudre (→) le contenu d'une capsule d'enzymes de R 2 dans un flacon de tampon R 1. Refermer et mélanger doucement jusqu'à ce que le contenu soit dissout. Stabilité: 6 semaines à 2-8°C ou 7 jours à 15-25°C.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption (A) du blanc à 340 ≤ 1,00.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour lectures à 340 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire (Remarque 2).

ECHANTILLONS

- Sérum ou plasma héparinisé¹: Ne pas utiliser de sels d'ammonium ou de fluorure comme anticoagulants.
 - Urine¹: Diluer l'échantillon à 1/50 avec de l'eau distillée. Mélanger. Multiplier le résultat obtenu par 50 (facteur de dilution); éviter l'augmentation de bactéries en maintenant le pH < 4.
- L'urée est stable 5 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
 - Longueur d'ondes: 340 nm
 - Cuvette: 1 cm d'éclairage
 - Température: 37/15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette:

	Bianc	Étalon	Echantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon (Remarque 1,3,4) (µL)	--	10	--
Echantillon	--	--	10

- Mélanger et consulter les absorptions aux 30 s (A₁) et aux 90 s (A₂).
- Calculer: ΔA = A₁ - A₂.

CALCULS

$$\frac{(A) \text{Echantillon}}{(A) \text{Étalon}} \times 50 \text{ (Étalon conc.)} = \text{mg/dL d'urée dans l'échantillon testé}$$

10 mg/L d'urée BUN divisé par 0,466 = 21 mg/L d'urée = 0,36 mmol/L d'urée¹.

Facteur de conversion: mg/dL x 0,1665 = mmol/L.

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210). Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibreur. Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE¹

Sérum: de 15 à 45 mg/dL (2,49-7,49 mmol/L)

Urine: de 20 à 35 gr/24 heures

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection 1,82 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité 500 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
Moyenne (mg/dL)	41,9	146	39,96	144
SD	0,89	2,55	1,10	2,79
CV (%)	2,13	1,74	2,76	1,93

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,0016 A.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,99.

Equation de la Courbe de régression: y=0,99x +0,01

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Comme anticoagulant, il est conseillé d'avoir recours à l'héparine. En aucun cas il ne faut utiliser de sels d'ammonium ou de fluorure¹.

Différentes drogues ont été décrites, ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination de l'urée^{2,3}.

REMARQUES

- UREA CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de la manipuler avec précaution. En effet, il peut facilement être contaminé.
- Le matériel utilisé ainsi que l'eau distillée ne doivent contenir ni ammonium ni sels¹.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Kaplan A. Urea. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1257-1260 and 437 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001332 Cont. R1: 10 x 20 mL, R2: 10 → 20 mL, CAL: 1 x 5 mL

Ref: 1001333 Cont. R1: 10 x 50 mL, R2: 10 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL



CREATININE -J

Créatinine

Jaffé. Colorimétrique - cinétique

Détermination quantitative de créatinine IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

Le test de la créatinine est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate sodium décrit par Jaffé.

La créatinine réagit avec le picrate alcalin en formant un complexe de couleur rouge. L'intervalle de temps choisi pour les lectures permet d'éliminer une grande partie des interférences connues pour la méthode. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine présente dans l'échantillon testé¹.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La créatinine est le résultat de la dégradation de la créatine, composant des muscles et qui peut être transformée en ATP, source d'énergie pour les cellules.

La production de créatinine dépend de la modification de la masse musculaire. Elle varie peu et les niveaux sont généralement très stables. Elle est éliminée par le rein. En cas d'insuffisance rénale progressive, il existe une rétention de sang dans l'urée, la créatine et l'acide urique. Des niveaux élevés de créatinine sont un signe de pathologie rénale^{1,2}. Le diagnostic clinique doit être réalisé en prenant compte des données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R 1		
Réactif picrique	Acide picrique	17,5 mmol/L
R 2		
Réactif alcalinisant	Hydroxyde de sodium	0,29 mol/L
CREATININE CAL	Patron premier de détection de la créatinine	2 mg/dL

PRECAUTIONS

R1/ R2: H314-Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. CAL: H290- Peut être corrosif pour les métaux. Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

PREPARATION

Réactif de travail (RT): Mélanger des volumes égaux de réactif picrique R1 et de réactif alcalinisant R2. Stabilité du réactif de travail: 15 jours à 2-8°C ou 7 jours à température ambiante (15-25°C).

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le flacon, et s'ils sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbation (A) du blanc à 492 nm \geq 1,80.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 492 nm (490-510).
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

- Sérum ou plasma héparinisé¹. Stabilité de la créatinine: 24 heures à 2-8°C.
- Urine (24 h): Diluer l'échantillon à 1/50 avec de l'eau distillée. Mélanger. Multiplier le résultat obtenu par 50 (facteur de dilution) Stabilité de la créatinine: 7 jours à 2-8°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
 - Longueur d'ondes: 492 nm (490-510)
 - Cuvette: 1 cm d'éclairage
 - Température: 37°C / 15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette^(Préparer 3):

	Blanc	Étalon	Échantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon ^(Préparer 1,2,3) (µL)	--	100	--
Échantillon (µL)	--	--	100

- Mélanger et activer le chronomètre.
- Consulter l'absorbation (A₁) au bout de 30 secondes puis de 90 secondes (A₂) après avoir ajouté l'échantillon de test.
- Calculer: $\Delta A = A_2 - A_1$.

CÂLCULS

$$\frac{\Delta A \text{ Échantillon} - \Delta A \text{ Blanc}}{\Delta A \text{ Étalon} - \Delta A \text{ Blanc}} \times 2 (\text{Conc. Étalon}) = \text{mg/dL de créatinine dans l'échantillon}$$

Facteur de conversion: mg/dL x 88,4 = µmol/L.

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE¹

Sérum plasma:

Hommes	0,7 - 1,4 mg/dL	\approx 61,8 - 123,7 µmol/L
Femmes	0,6 - 1,1 mg/dL	\approx 53,0 - 97,2 µmol/L
Orina: 15-25 mg/Kg/24 h		
Hommes	10 - 20 mg/Kg/24 h	
Femmes	8 - 18 mg/Kg/24 h	

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0,000 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 35 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

	Intra-série (n=20)		Inter-série (n=20)	
Mesure (mg/dL)	0,92	3,43	0,96	3,50
SD	0,03	0,07	0,04	0,09
CV (%)	2,76	1,90	3,97	2,51

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,0407 ΔA /min.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r)²: 0,99584.

Equation de la Courbe de régression: $y = 0,953x + 0,075$.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Hémoglobine (1 g/L), Bilirubine (55 mg/dL), interfèrent¹. Lipides < 4 g/L n'interfèrent pas. Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de la créatinine^{2,3}.

REMARQUES

- CREATININE CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de le manipuler avec une grande précaution. En effet, il peut être contaminé avec facilité.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériés.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Murray R.L. Creatinine. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.
- Young D.S. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young D.S. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001110		R1: 1 x 50 mL, R2: 1 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref: 1001111	Cont.	R1: 1 x 150 mL, R2: 1 x 150 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001112		R1: 1 x 1000 mL, R2: 1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001113		R1: 2 x 250 mL, R2: 2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL



Acide Urrique

Uricase -POD. Enzymatique colorimétrique

Détermination quantitative d'acide urique IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'acide urique est oxydé par l'uricase à l'allantoïne et le peroxyde d'hydrogène (2H₂O₂) qui, en présence de la peroxydase (POD), 4-aminophénazone (4-AF) et du 2-4 Diclrophénol sulphonate (DCPS) forme un composé rosacé:



L'intensité de quinonimine rouge formée est proportionnelle à la concentration d'acide urique présente dans l'échantillon testé².

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'acide urique et ses sels sont le produit final du métabolisme des purines. En cas d'insuffisance rénale progressive, il existe une rétention de sang dans l'urée, de créatinine et d'acide urique. Des niveaux élevés d'acide urique indiquent une pathologie rénale et sont souvent accompagnés de fuites urinaires^{1, 5, 6}. Le diagnostic clinique doit être réalisé en tenant compte de toutes les données cliniques et des données de laboratoire.

REACTIFS

R 1	Phosphates pH 7,4	50 mmol/L
Tampon	2-4 Diclrophénol sulphonate (DCPS)	4 mmol/L
R 2	Uricase	60 U/L
Enzymes	Peroxydase (POD)	660 U/L
	Ascorbate oxydase	200 U/L
	4 - Aminophénazone (4-AF)	1 mmol/L
ACIDE URIQUE CAL	Patron primaire de détection d'acide urique	6 mg/dL

PREPARATION

Réactif de travail (RT): Dissoudre (→) le contenu d'une capsule d'enzymes de R 2 dans un peu de tampon R 1. Fermer et mélanger doucement jusqu'à dissoudre le contenu. Stabilité: 1 mois au réfrigérateur (2-8°C) ou 10 jours à température ambiante.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le flacon, et s'ils sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption (A) du blanc à 520 nm ≥ 0,16.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 520 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

- Sérum ou plasma¹: Stabilité 3-5 jours à 2-8°C et 6 mois à -20°C.
- Urine (24 h)¹: Stabilité 3 jours à température ambiante à pH > 8. Diluer l'échantillon dans 1/50 d'eau distillé. Mélanger. Multiplier le résultat obtenu par 50 (facteur de dilution); si l'échantillon est trouble, faites-le réchauffer à 60°C pendant 10 min pour dissoudre les précipités d'urate et d'acide urique. Ne pas placer au réfrigérateur.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes:520 nm (490-550)
Cuvette:1 cm d'éclairage
Température:37°C/15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette:

	Blanc	Modèle	Echantillon
RT (mL)	1,0	1,0	1,0
Modèle ^(Remarque 1-2) (µL)	--	25	--
Echantillon (µL)	--	--	25

- Mélanger et incubé pendant 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à 15-25°C.
- Lire l'absorption (a) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

CALCULS

Sérum ou plasma

$$\frac{(A) \text{Echantillon}}{(A) \text{Modèle}} \times 6 \text{ (Conc. Modèle)} = \text{mg/dL d'acide urique dans l'échantillon}$$

Urine 24 h

$$\frac{(A) \text{Echantillon}}{(A) \text{Modèle}} \times 6 \times \text{vol. (dL) urine /24h} = \text{mg/24 h d'acide urique}$$

Facteur de conversion: mg/dL x 59,5= µmol/L.

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées:

SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE⁵

Sérum ou plasma:

Femmes 2,5 - 6,8 mg/dL ≅ 149 - 405 µmol/L

Hommes 3,6 - 7,7 mg/dL ≅ 214 - 458 µmol/L

Urine: 250 - 750 mg/24 h ≅ 1,49 - 4,5 mmol/24 h

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0,03 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 25 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
Moyenne (mg/L)	4,74	11,4	4,72	11,2
SD	0,03	0,06	0,07	0,15
CV (%)	0,63	0,56	1,58	1,36

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,0347 A.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,99.

Equation de la Courbe de régression: y=1,005x +0,0005

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Aucune interférence n'a été constaté avec la bilirubine jusqu'à 170 µmol/L, avec l'hémoglobine jusqu'à 130 mg/dL, ni avec l'acide ascorbique jusqu'à 570 µmol/L². Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de l'acide urique^{3,4}.

REMARQUES

- URIC ACID CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de le manipuler avec une grande précaution. En effet, il peut être contaminé avec facilité.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques.
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Schultz A. Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1261-1266 and 418.
- Fossati P et al. Clin Chem 1980;26:227-231.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001010	Cont.	R1: 10 x 20 mL, R2:10 → 20 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001011		R1: 10 x 50 mL, R2:10 → 50 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001012		R1: 4 x 125 mL, R2:4 → 125mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001013		R1: 4 x 250 mL, R2:4 → 250mL, CAL: 1 x 5 mL



Détermination quantitative de l'albumine IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

L'albumine se combine au vert de bromocrésol, à pH légèrement acide, entraînant un changement de couleur de l'indice, passant du jaune-vert au vert-bleuté, et proportionnel à la concentration d'albumine présente dans l'échantillon testé^{1, 2, 3, 4}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

L'albumine est l'une des protéines plasmatiques les plus importantes produite par le foie.

Parmi ses multiples fonctions, on retiendra la nutrition, l'entretien de la pression oncotique et le transport des substances telles que la Ca⁺⁺, la bilirubine, les acides gras, les drogues et les stéroïdes.

Des perturbations dans les valeurs de l'albumine signalent des maladies du foie, une malnutrition, des lésions de la peau telles que de la dermatite, des brûlures importantes ou une déshydratation^{1, 7, 8}.

Le diagnostic clinique doit tenir compte des données cliniques et des données de laboratoire.

REACTIFS

R	Vert de bromocrésol pH 4,2	0,12 mmol/L
ALBUMINE CAL	Étalon primaire de détection de l'albumine 5 g/dL	

PREPARATION

Le réactif et le étalon sont prêts à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette du flacon, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorption du blanc à 630 nm $\geq 0,40$.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 630 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma sans hémolysis¹: Stabilité 1 mois à 2-8°C ou 1 semaine à 15-25°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes: 630 nm (600-650)
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température: 15-25°C/37°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette (Remarque 3):

	Blanc	Modèle	Echantillon
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Modèle (Remarque 1,2) (µL)	--	5	--
Echantillon (µL)	--	--	5

- Mélanger et incuber pendant 5 min. à 37°C ou 10 min. à 15-25°C.
- Lire l'absorption (a) du patron et l'échantillon, en comparaison avec
- le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant 1 heure à température ambiante.

CALCULS

$$\frac{(A) \text{Échantillon} - (A) \text{Blanc}}{(A) \text{Étalon} - (A) \text{Blanc}} \times 5 \text{ (Étalon conc.)} = \text{g/dL d'albumine dans l'échantillon}$$

Facteur de conversion: g/dL x 144,9 = µmol/L

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibre.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE

3,5 à 5,0 g/dL¹.

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0,0349 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité de 6 mg/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
Moyenne (g/dL)	4,17	2,84	4,56	3,07
SD	0,02	0,01	0,28	0,18
CV (%)	0,42	0,53	6,20	5,90

Sensibilité analytique: 1 g/dL = 0,2003 A.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r)²: 0,99169.

Equation de la Courbe de régression: y=1,045x - 0,028.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

La bilirubine jusqu'à 110 mg/L, l'hémoglobine jusqu'à 1 g/L et la lipémie jusqu'à 10 g/L, interfèrent^{1,4}.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances qui interfèrent dans la détermination de l'albumine^{5, 6}.

REMARQUES

- ALBUMINE CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de le manipuler avec précaution. En effet, il peut être facilement contaminé.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Gendler S. Uric acid. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1268-1273 and 425.
- Rodkey F L. Clin Chem 1965; 11: 478-487.
- Webster D. Clin Chem. 1974; Acta 53: 109-115.
- Doumas BT Clin Chem. 1971; Acta 31: 87-96.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001020	Cont.	R: 2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001022		R: 1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001023		R: 2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL



BILIRUBIN T&D

Bilirubine T & D
DMSO. Colorimétrique**Détermination quantitative de bilirubine IVD**

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

La bilirubine est transformée en azobilirubine au moyen de l'acide sulfanilique diazoté, et se mesure par photométrie. Des deux fractions présentes dans le sérum, la bilirubine-glucuronide et la bilirubine libre associée à l'albumine, seule la première réagit en milieu aqueux (bilirubine directe). La deuxième ne réagit que par solubilisation avec du diméthylsulfoxyde (DMSO) (bilirubine indirecte). Dans la détermination de la bilirubine indirecte, on détermine également la directe, le résultat correspondant à la bilirubine totale. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de bilirubine présente dans l'échantillon testé^{1,2}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

La bilirubine provient de la dégradation de l'hémoglobine. Elle est transportée depuis la rate vers le foie et est excrétée dans la bile. L'hyperbilirubinémie est le résultat d'une augmentation de la bilirubine dans le plasma. Les causes les plus probables de la hyperbilirubinémie sont: La bilirubine totale (T): Augmentation de l'hémolyse, altérations génétiques, anémie néonatale, altérations d'entropoétynes, présence de drogues. Bilirubine directe (D): Choléstase hépatique, altérations génétiques et héathiques^{1,3,4}. La diagnostique clinique doit tenir compte des données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R 1 (D)	Acide sulfanilique	30 mmol/L
	Acide chlorhydrique (ClH)	150 mmol/L
R 2 (T)	Acide sulfanilique	30 mmol/L
	Acide chlorhydrique (ClH)	50 mmol/L
	Diméthylsulfoxyde (DMSO)	7 ml/L
R 3	Nitrite de sodium	29 mmol/L
Optionnel	BILIRRUBIN CAL ^(Remarque 3)	Réf: 1002250

PRECAUTIONS

R1/R2: H290-Peut être corrosif pour les métaux. H314-Provoque des brûlures graves et des lésions oculaires. EUH208-Contient de l'acide sulfanilique. Peut déclencher une réaction allergique.

Suivez les conseils de prudence donnés dans la fiche signalétique et l'étiquette du produit.

PREPARATION

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette de la capsule, et si les capsules sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Développement de couleurs en R 2.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 555 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma sans hémolyse (séparé dès que possible des hématies). A l'abri de la lumière.

Stabilité de l'échantillon de par la présence d'hématies: 4 jours à 2-8°C ou 2 mois à -20°C.

PROCEDURE

- Conditions de test:
Longueur d'ondes:555 nm (530-580)
Cuvette: 1 cm d'éclairage
Température 15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette:^(Remarque 2)

	Blanc	B. Totale	Blanc	B. Directe
R 1 (D) (mL)	--	--	1,5	1,5
R 2 (T) (mL)	1,5	1,5	--	--
R 3 (µL)	--	50	--	50
Echantillon ^(Remarque 1) / Calibreur (µL)	100	100	100	100

- Mélanger et incuber pendant exactement **5 minutes** à 15-25°C.
- Lire l'absorption (A).

CALCULS

- Avec calibreur:

$$\frac{(A) \text{ Echantillon} - (A) \text{ Blanc Echantillon}}{(A) \text{ Calibreur} - (A) \text{ Blanc Calibreur}} \times \text{Calibreur Conc.} = \text{mg/dL de bilirubine}$$

- Avec facteur:

$$((A) \text{ Echantillon} - (A) \text{ Blanc d'échantillon}) \times \text{Facteur}^* = \text{mg/dL bilirubine dans l'échantillon}$$

$$\text{Facteur}^* = \frac{\text{Concentration du Calibreur}}{(A) \text{ Calibreur} - (A) \text{ Blanc Calibreur}}$$

Facteur de conversion: mg/dL x 17,1 = µmol/L.

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210). Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibreur.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE¹

Bilirubine totale	Jusqu'à 1,10 mg/dL \equiv 18,81 µmol/L
Bilirubine directe	Jusqu'à 0,25 mg/dL \equiv 4,27 µmol/L

Ces valeurs sont données à titre indicatif. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de (T) 0,00526 mg/dL (D) 0,07 mg/dL jusqu'à la limite de linéarité 18 mg/dL (T) et 20 mg/dL (D).

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du CINA 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

Bilirubine T	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	Moyenne (mg/dL)	1,53	5,06	1,53
SD	0,03	0,05	0,03	0,11
CV (%)	1,73	1,01	1,92	2,18

Bilirubine D	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
	Moyenne (mg/dL)	0,96	2,48	0,96
SD	0,024	0,051	0,043	0,035
CV (%)	2,52	2,06	4,49	1,41

Sensibilité analytique: 1 mg/dL = 0,05074 A (T).
1 mg/dL = 0,06856 A (D).

Exactitude: Les réactifs SPINREACT ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux.

Les résultats obtenus avec 50 échantillons pour la bilirubine D ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r²): 0,96

Equation de la courbe de régression: y=0,71177x - 0,05267

Les résultats obtenus avec 50 échantillons pour la bilirubine T ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r²): 0,991.

Equation de la Courbe de régression: y=0,82743x - 0,0382

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

La présence d'hémolyse fait réduire la valeur en bilirubine^{1,2}.

Différentes drogues ont été décrites ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination de la bilirubine^{3,4}.

REMARQUES

- Pour déterminer la bilirubine dans les néonatales, relever à la pipette 50 µL de l'échantillon. Multiplier le résultat obtenu par 2.
- Utilisez pipette jetable propre pour la dispensation.
- Seulement à utiliser dans la bilirubine totale.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Kaplan A et al. Bilirubine. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1238-1241, 436 and 650.
- Malloy H T. et al. The determination of bilirubin with the photoelectric colorimeter. J. Biol Chem 1937; 112, 2: 481-491.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001044

Cont.

R 1 (D): 1 x 150 mL
R 2 (T): 1 x 150 mL
R 3: 1 x 10 mL



Bilirubin Auto Direct FS* (Bilirubine Auto Directe FS*)

Présentation

Référence	Composition du kit				
1 0821 99 10 021	R1	5 x 20 mL	+	R2	1 x 25 mL
1 0821 99 10 026	R1	5 x 80 mL	+	R2	1 x 100 mL
1 0821 99 10 023	R1	1 x 800 mL	+	R2	1 x 200 mL
1 0821 99 10 704	R1	8 x 50 mL	+	R2	8 x 12,5 mL
1 0821 99 10 930	R1	4 x 20 mL	+	R2	2 x 10 mL

Emploi Prévu

Réactif de diagnostic in vitro pour la détermination quantitative de la bilirubine directe dans le sérum humain ou le plasma recueilli sur héparine sur systèmes photométriques automatisés.

Intérêt Clinique

La bilirubine est un produit de dégradation de l'hémoglobine. La bilirubine libre, non conjuguée, est fortement non polaire et pratiquement insoluble dans l'eau ; c'est pourquoi elle forme un complexe avec l'albumine pour passer dans le sang de la rate vers le foie. Dans le foie, la bilirubine se conjugue avec l'acide glucuronique et le conjugué résultant, soluble dans l'eau, est excrété par les voies biliaires. L'hyperbilirubinémie peut avoir pour origine une production accrue de bilirubine à la suite d'une hémolyse (ictère pré-hépatique), des lésions du parenchyme hépatique (ictère hépatique) ou une occlusion des voies biliaires (ictère post-hépatique). Le syndrome de Gilbert est une hyperbilirubinémie (essentiellement non conjuguée) congénitale chronique, d'apparition fréquente dans la population. Des valeurs élevées de bilirubine peuvent être observées chez 60 à 70 % des nouveau-nés en raison d'une lyse post-natale accrue des érythrocytes et d'un retard de fonctionnement des enzymes de dégradation de la bilirubine. Les méthodes habituelles d'analyse pour la détermination de la bilirubine mesurent, soit la bilirubine totale, soit la bilirubine directe ; dans le cas de la bilirubine directe, c'est essentiellement la bilirubine conjuguée, soluble dans l'eau, qui est mesurée. Le taux de bilirubine non conjuguée peut alors être estimé par la différence entre la bilirubine totale et la bilirubine directe. [1,2]

Méthode

Test photométrique DCA (2,4-dichloroaniline)

La bilirubine directe forme avec la 2,4-dichloroaniline diazotée, en milieu acide, un azocomposé coloré en rouge. [3]

Réactifs

Composants et Concentrations

R1 :	EDTA-Na ₂	0,1 mmol/L
	NaCl	150 mmol/L
	Acide sulfamique	100 mmol/L
R2 :	2,4-Dichloroaniline	0,5 mmol/L
	HCl	900 mmol/L
	EDTA-Na ₂	0,13 mmol/L

Conservation et Stabilité

Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur le coffret, conservés entre +2 °C et +8 °C en évitant toute contamination. Ne pas congeler et conserver à l'abri de la lumière.

Avertissements et Précautions d'Emploi

- ⚠ Réactif 1 et 2 : Attention. H290 Peut être corrosif pour les métaux. P234 Conserver uniquement dans l'emballage d'origine. P390 Absorber toute substance répandue pour éviter qu'elle attaque les matériaux environnants.
- Dans de très rares cas, des spécimens de patients souffrants de gammopathie peuvent produire des valeurs fausses [4].
- Les médicaments à base d'eltrombopag conduisent aux résultats faussement bas ou élevés dans les spécimens de patients.
- Merci de vous référer aux fiches de sécurité et prendre les précautions nécessaires pour l'utilisation de réactifs de laboratoire. Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être exploités en fonction de l'historique médical du patient, des examens cliniques ainsi que des résultats obtenus sur d'autres paramètres.
- Uniquement à usage professionnel.

Gestion des Déchets

Se référer aux exigences légales nationales.

Préparation du Réactif

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Matériels Nécessaires

Équipement général de laboratoire

Spécimen

Sérum humain ou plasma recueilli sur héparine

Protéger le spécimen de la lumière.

Stabilité [5] :

2 jours	entre	+20 °C et +25 °C
7 jours	entre	+4 °C et +8 °C
6 mois	à	-20 °C

si le spécimen est congelé immédiatement.

Une seule congélation. Éliminer les échantillons contaminés.

Mode Opérateur

Configuration de base sur BioMajesty® JCA-BM6010/C

Longueur d'onde	545/658 nm
Température	+37 °C
Mesure	Point final
Échantillon/Calibrant	3,5 µL
Réactif 1	80 µL
Réactif 2	20 µL
Ajout réactif 2	Cycle 19 (286 s)
Absorbance 1	Cycle 17/18 (230 s/244 s)
Absorbance 2	Cycle 32/41 (464 s/586 s)
Calibration	Linéaire

Calcul

Avec calibrant

$$\text{Bilirubine [mg/L]} = \frac{\Delta A \text{ Échantillon}}{\Delta A \text{ Cal.}} \times \text{Conc. Cal. [mg/L]}$$

Facteur de Conversion

$$\text{Bilirubine [mg/dL]} \times 17,1 = \text{Bilirubine [\mu mol/L]}$$

Calibrants et Contrôles

TruCal U de DiaSys est recommandé pour la calibration. Les valeurs du calibrant sont établies par rapport au test manuel Jendrassik-Gróf. Utiliser TruLab N et P de DiaSys pour le contrôle de qualité interne. Chaque laboratoire établira la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites de confiance.

	Référence	Présentation
TruCal U	5 9100 99 10 063	20 x 3 mL
	5 9100 99 10 064	6 x 3 mL
TruLab N	5 9000 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9000 99 10 061	6 x 5 mL
TruLab P	5 9050 99 10 062	20 x 5 mL
	5 9050 99 10 061	6 x 5 mL

Performances

Données évaluées sur BioMajesty® JCA-BM6010/C

Les données exemplaires citées en bas peuvent varier légèrement en cas de conditions de mesure déviantes.

Domaine de mesure jusqu'à 10 mg/dL. Au-delà de cet intervalle, diluer le spécimen 1 + 1 avec du NaCl (9 g/L) et multiplier le résultat par 2.	
Limite de détection**	0,01 mg/dL

Substance interférente	Interférences ≤ 10 % jusqu'à
Acide ascorbique	30 mg/dL
L'hémoglobine interfère à de faibles concentrations.	
Lipémie (Triglycérides)	600 mg/dL
Pour plus d'information au sujet des interférences, voir Young DS [6,7].	

Précision			
Intra série (n=20)	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 3
Moyenne [mg/dL]	0,25	1,52	2,90
CV [%]	2,79	1,55	1,96
Inter série (n=20)	Échantillon 1	Échantillon 2	Échantillon 3
Moyenne [mg/dL]	0,85	2,20	2,35
CV [%]	2,49	1,86	1,63

Comparaison de méthodes (n=109)	
Test x	Bilirubine Auto Directe FS de DiaSys (Hitachi 917)
Test y	Bilirubine Auto Directe FS de DiaSys (BioMajesty® JCA-BM6010/C)
Pente	1,02
Ordonnée à l'origine	-0,004 mg/dL
Coefficient de corrélation	0,999

** Concentration mesurable la plus basse qui peut être distinguée de zéro ; Moyenne + 3 SD (n = 20) d'un spécimen exempt d'analyte.

Valeurs Usuelles [1]

Adultes et enfants ≤ 0,2 mg/dL ≤ 3,4 µmol/L

Chaque laboratoire devrait vérifier si les valeurs usuelles sont transmissibles à sa propre population patiente et déterminer ses propres valeurs de référence si besoin.

Références Bibliographiques

1. Thomas L ed. Clinical Laboratory Diagnostics. 1st ed. Frankfurt: TH-Books Verlagsgesellschaft, 1998: p. 192-202.
2. Tolman KG, Rej R. Liver function. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: W.B Saunders Company; 1999. p. 1125-77.
3. Rand RN, di Pasqua A. A new diazo method for the determination of bilirubin. Clin Chem 1962;6:570-8.

4. Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. ClinChemLabMed 2007;45(9):1240-1243.
5. Guder WG, Zawta B et al. The Quality of Diagnostic Samples. 1st ed. Darmstadt: GIT Verlag; 2001: p. 18-9.
6. Young DS. Effects of Drugs on Clinical Laboratory Tests. 5th ed. Volume 1 and 2. Washington, DC: The American Association for Clinical Chemistry Press 2000.
7. Young DS. Effects on Clinical Laboratory Tests - Drugs Disease, Herbs & Natural Products, <https://clinfx.wiley.com/aaccweb/aacc/>, accessed in December 2020. Published by AACC Press and John Wiley and Sons, Inc.



DiaSys Diagnostic Systems GmbH
Alte Strasse 9 65558 Holzheim
Allemagne
www.diasys-diagnostics.com

* Fluid Stable = Liquide & Stable



Détermination quantitative de protéines totales IVD

Conserver à 2-8°C

PRINCIPE DE LA METHODE

En milieu alcalin, les protéines donnent une couleur violette/bleue en présence de sels de cuivre; ces sels contiennent du iode qui agit comme un antioxydant.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de protéines totales dans l'échantillon testé^{1, 4}.

SIGNIFICATION CLINIQUE

Les protéines sont des composés organiques macromoléculaires, répartis largement dans l'organisme. Elles fonctionnent comme des éléments structurels et de transport. Elles sont divisées en deux fractions, albumines et globulines.

Leur détermination est utile pour détecter:

- l'hyperprotéinémie produite par hémococoncentration, déshydratation ou augmentation de la concentration des protéines spécifiques.
- L'hypo protéinémie par hémodilution due à une défaillance dans la synthèse protéique, à des pertes excessives (hémorragies) ou à un catabolisme protéique excessif^{4, 5}.

Le diagnostic clinique doit tenir compte des données cliniques et de laboratoire.

REACTIFS

R Biuret	Tartrate de potassium de sodium	15 mmol/L
	Iodure de sodium	100 mmol/L
	Iodure de potassium	5 mmol/L
	Sulfate de cuivre (II)	5 mmol/L
	Hydroxyde de sodium	1000 mmol/L
T PROTEIN CAL	Patron primaire d'albumine bovine 7 g/dL	

PRECAUTION

R: H314-Provoque des brûlures de la peau et des lésions oculaires graves. H412-Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Suivez les conseils de prudence donnés en SDS et étiquette.

PREPARATION

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

CONSERVATION ET STABILITE

Tous les composants du kit sont stables jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette, et si les flacons sont maintenus hermétiquement fermés à 2-8°C, à l'abri de la lumière et des sources de contamination. Ne pas utiliser les réactifs en dehors de la date indiquée.

Indices de détérioration des réactifs:

- Présence de particules et turbidité.
- Absorbance (A) du blanc à 540 nm $\geq 0,22$.

MATERIEL SUPPLEMENTAIRE

- Spectrophotomètre ou analyseur pour les lectures à 540 nm.
- Cuvettes de 1,0 cm d'éclairage.
- Equipement classique de laboratoire.

ECHANTILLONS

Sérum ou plasma héparinisé¹.

Stabilité de l'échantillon: 1 mois au réfrigérateur (2-8°C).

PROCEDURE

- Conditions de test:
 Longueur d'ondes: 540 nm (530-550)
 Cuvette: 1 cm d'éclairage
 Température: 37°C/15-25°C
- Régler le spectrophotomètre sur zéro en fonction de l'eau distillée
- Pipetter dans une cuvette:

	Blanc	Étalon	Echantillon
R (mL)	1,0	1,0	1,0
Étalon (Remarque 1,2,3) (µL)	--	25	--
Echantillon (µL)	--	--	25

- Mélanger et incubé 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à température ambiante.
- Lire l'absorbance (A) du patron et l'échantillon, en comparaison avec le blanc du réactif. La couleur reste stable pendant au moins 30 minutes.

CALCULS

$$\frac{(A) \text{Échantillon} - (A) \text{Blanc}}{(A) \text{Étalon} - (A) \text{Blanc}} \times 7 \text{ (Étalon conc.)} = \text{g/dL de protéines totales}$$

CONTROLE DE QUALITE

Il est conseillé d'analyser conjointement les échantillons de sérum dont les valeurs ont été contrôlées: SPINTROL H Normal et pathologique (Réf. 1002120 et 1002210).

Si les valeurs se trouvent en dehors des valeurs tolérées, analyser l'instrument, les réactifs et le calibreur.

Chaque laboratoire doit disposer de son propre contrôle de qualité et déterminer les mesures correctives à mettre en place dans le cas où les vérifications ne correspondraient pas aux attentes.

VALEURS DE REFERENCE¹

Adultes: 6,6 – 8,3 g/dL

Nouveau-nés: 5,2 – 9,1 g/dL

Ces valeurs sont données à titre d'information. Il est conseillé à chaque laboratoire de définir ses propres valeurs de référence.

CARACTERISTIQUES DE LA METHODE

Gamme de mesures: Depuis la limite de détection de 0,007 g/dL jusqu'à la limite de linéarité de 14 g/dL.

Si la concentration de l'échantillon est supérieure à la limite de linéarité, diluer 1/2 avec du ClNa 9 g/L et multiplier le résultat final par 2.

Précision:

	Intra-série (n= 20)		Inter-série (n= 20)	
Moyenne (g/dL)	6,53	4,89	6,77	5,08
SD	0,01	0,01	0,07	0,05
CV (%)	0,21	0,24	1,05	0,94

Sensibilité analytique: 1 g/dL = 0,0825 A.

Exactitude: Les réactifs SPINREACT (y) ne montrent pas de différences systématiques significatives lorsqu'on les compare à d'autres réactifs commerciaux (x).

Les résultats obtenus avec 50 échantillons ont été les suivants:

Coefficient de corrélation (r): 0,97002

Equation de la Courbe de régression: y= 0,954x + 0,511.

Les caractéristiques de la méthode peuvent varier suivant l'analyseur employé.

INTERFERENCES

Hémoglobine et lipémie^{1, 4}.

Différentes drogues ont été décrites, ainsi que d'autres substances pouvant interférer dans la détermination de protéines^{2, 3}.

REMARQUES

- T PROTEIN CAL: Etant donné la nature du produit, il est conseillé de le manipuler avec une grande précaution. En effet, il peut être contaminé avec facilité.
- Le calibrage au moyen du patron de détection peut donner lieu à des erreurs systématiques lors de méthodes automatiques. Dans de tels cas, il est conseillé d'utiliser des calibrages sériques
- Utiliser des embouts de pipettes jetables propres pour diffuser le produit.
- SPINREACT dispose de consignes détaillées pour l'application de ce réactif dans différents analyseurs.

BIBLIOGRAPHIE

- Koller A. Total serum protein. Kaplan A et al. Clin Chem The C.V. Mosby Co. St Louis. Toronto. Princeton 1984; 1316-1324 and 418.
- Young DS. Effects of drugs on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC Press, 1995.
- Young DS. Effects of disease on Clinical Lab. Tests, 4th ed AACC 2001.
- Burtis A et al. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed AACC 1999.
- Tietz N W et al. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed AACC 1995.

PRESENTATION

Ref: 1001290	Cont.	R:2 x 50 mL, CAL: 1 x 2 mL
Ref: 1001291		R:2 x 250 mL, CAL: 1 x 5 mL
Ref: 1001292		R:1 x 1000 mL, CAL: 1 x 5 mL

