

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAÏD  
FACULTE DE MEDECINE  
DR. B. BENZERDJEB - TLEMCCEN



وزارة التعليم العالي  
والبحث العلمي  
جامعة أبو بكر بلقايد  
كلية الطب  
د. ب. بن زرجب - تلمسان

DEPARTEMENT DE PHARMACIE

**MEMOIRE DE FIN D'ETUDES POUR  
L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**THÈME :**

**ETABLISSEMENT DES NORMES DES PARAMETRES  
BIOCHIMIQUES DU BILAN PHOSPHOCALCIQUE CHEZ  
L'ADULTE SAIN AU NIVEAU DE CHU DE TLEMCCEN.**

**Présenté par : BOUFRADJI Asmaa & BOUBEKEUR Imane.**

*Soutenu le 08 /10/2020*

**Le Jury**

**Président : Dr BOUKENKOUL Wafaa maitre assistante en hématologie et transfusion sanguine.**

**Membres : Dr BAOUCH Ahmed praticien assistant en biochimie médicale.**

**Dr AZAMANI Nassima assistante en biochimie médicale.**

**Dr DOUABI Omar maitre-assistant en microbiologie.**

**Encadreur : Dr SIB Ahmed Yasser maitre-assistant en biochimie médicale**

**Co-encadreur : Dr KAZI Salma assistante en biochimie médicale.**

# Remerciement

« Celui qui ne remercie pas les gens ne remercie pas le Dieu... »

Nous tenons à exprimer toute nos reconnaissances à notre encadreur monsieur

**Dr SIB Ahmed Yasser** et co-encadreur **Dr KAZI Salma**.

Nous les remercions de nous avoir encadrés, orienté, aidé et conseillé.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions **Dr BOUKENKOUL, Dr DOUAHI, Dr**

**BAOUCHE, Dr AZMANI**.

Nous remercions plus particulièrement **Dr ABOUREDJEL** pour tous les efforts déployés en vue d'améliorer la qualité de la formation en pharmacie.

Nous tenons également à remercier tous les professeurs et intervenants, qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé nos réflexions et ont accepté à nous rencontrer et répondre à nos questions durant nos recherches, à nos collègues pour leurs aides, et à tous les hommes et les femmes qui ont participé à cette étude.

Nous n'oublions pas toute l'équipe du laboratoire de biochimie, les biologistes, les techniciens et les infirmières qu'ils nous ont beaucoup aidé.

Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce mémoire.

# *Dédicace*

*Avec tout mon amour et mon accomplissement,*

*Je dédie ce travail,*

*A Dieu le Père Tout puissant*

*Au soleil de ma vie et de sa lune : ma mère et mon père que j'adore, Qui ont fait de moi ce que je suis. Vous qui m'avez élevé, qui m'avez toujours soutenu, Vous qui n'avez jamais cessé de croire en moi, Vous, qui voyez le monde à travers mes yeux. Aucun mot, aucune langue ne saurait exprimer mon grand amour ni ma profonde reconnaissance à votre égard.*

*Aux étoiles qui décorent ma vie : mes frères (Abed elkader Saleh, Fares), mes sœurs (Aicha, Somia, Saliha, Malika, et Nour Elhouda) leurs enfants, mes cousins, cousines, tantes et mes oncles.*

*Au partenaire de cette idée, le partenaire de ma vie Imane qui est le compagnon de ma route, qui garde un bon esprit d'équipe et des liens d'amitié, et qui porte les mêmes soucis, et qui marche toujours avec moi vers le plus grand but.*

*A mon cher ami Mourad*

*Ta volonté, ta détermination à te réaliser par toi-même, à réussir, ont toujours suscité mon admiration. Merci pour ton soutien et pour tout l'amour que tu me portes, j'aimerais pouvoir te dire des millions de choses, mais il me faudra des années pour exprimer ce dont je ressens pour toi.*

*Amour profond.*

*A mes amis : Nadjet, Sarra, Rafika, Fouzia, Soumia, Fatiha, Fatima, Bouchra, Tita, Ahmed les plus beaux cadeaux de la vie.*

*A tous mes professeurs et mes éducateurs.*

*A tous ceux dont les noms n'ont pu être cités et qui ont*

*Contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Asmaa



# *Dédicace*

*Avant toute chose, je remercie Dieu, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force, la volonté, et la patience durant toutes mes années d'études.*

*Je dédie ce mémoire :*

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et ma source de tendresse, maman que j'adore, tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ces enfants suivent le bon chemin.*

*A l'homme de ma vie, mon exemple éternel, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours pour toi. Rien au monde ne vaut les efforts fournis jours et nuit pour mon éducation et mon bien être, à toi mon père.*

*A mon cher frère Fayçal et ma chère sœur Wassila, j'avoue vraiment que si je suis arrivée à être là c'est grâce à vous, et à votre amour.*

*A mon très chère binôme Asmaa, quand je pense à tout ce qui nous lie et à l'importance que tu as pour moi je me dis que, j'ai bien de la chance d'avoir une sœur comme toi, mais peut-être puis-je laisser parler mon cœur et te dire, tu es un cadeau de ciel.*

*A ma grande mère que dieu te protège.*

*A ma tante et mon oncle.*

*A mes chères cousines : Karima, Sihem, Hafida et mon cher cousin : Bilel*

*A toute ma famille.*

*A mes chères amies Sihem, Khadidja, Najet, Ismahene, Asmaà, Amina, Mouna, Chahrazed, Halima, Houda noor, Bouchra, Tita, Ahmed et Mourad, mes sentiments les plus respectueux avec mes vœux de succès, de bonheur, et de bonne santé.*

*À tous ceux dont les noms n'ont pu être cités et qui ont*

*Contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

**Imane**



## Liste des abréviations

---

**ANC** : Apports Nutritionnels Conseillé.

**ARNm** : Acide Ribonucléique Messenger.

**ATP** : Adénosine Tri Phosphate.

**BCG** : Bromo-Cresol Green

**Ca** : Calcium.

**CaSR** : Récepteur Sensible au Calcium.

**CHU** : Centre Hospitalo-Universitaire.

**CLHP** : Chromatographie Liquide Haute Performance.

**CLIA** : ChemiLuminoImmunoAssay.

**CLSI** : Clinical and Laboratory Standards Institute.

**CMIA** : Chemiluminescent microparticle immunoassay.

**cm** : centimètre

**CVi** : Coefficient de Variation Intra-individuel.

**D2** : Vitamine D2.

**D3** : Vitamine D3.

**DFG** : Débit de Filtration Glomérulaire.

**ECLIA** : ElectroChemiluminescence Immuno Assay.

**EDTA** : Éthylène Diamine Tétra Acétique.

**EIA** : Enzyme Immuno Assay.

**Elisa** : Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay.

**FIA** : Fluorescent Immuno Assay

**FGF-23** : Fibro-blast Growth Factor -23.

**J** : jour

**GBEA** : Guide de Bonnes Exigences d'Analyses.

**GGT** : Gamma-Glutamyl Transférase.

**g/l** : Gramme par litre.

**GR** : Globule Rouge.

**H** : Heure.

**HbA1c** : Hémoglobine Glyquée.

**HG** : Hormone de Croissance.

**HLA** : Human Leukocyte Antigen.

**IC** : Intervalle de Confiance.

**IFCC** : International Federation of Clinical Chemistry.

## Liste des abréviations

---

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

**IGF-1** : Insulin-like Growth Factor-1.

**ILQ** : Qualité Inter Laboratoire.

**IQR** : Intervalle Inter Quartile.

**IR** : Intervalle de Référence.

**IRC** : Insuffisance Rénale Chronique.

**ISO** : International Organization for Standardization.

**K** : Potassium.

**Kg** : Kilogramme

**L** : litre.

**LBM** : Laboratoire de Biologie Médicale.

**LC-MS/MS** : Liquid Chromatography coupled to tandem Mass Spectrometry.

**MI** : Méthode Immunologique.

**m** : Moyenne.

**mg /j** : Milligramme par jour.

**mg /l** : Milligramme par litre.

**mg /dL** : Milligramme par décilitre.

**mol/L** : Mole par litre.

**Mg** : Magnésium.

**N** : Nombre.

**Na** : Sodium.

**NCCLS** : National Committe for Clinical Laboratory Standards.

**nm** : Nanomètre

**NPT2b** : Sodium-dependent Phosphate co-Transporter 2b.

**OH D** : Hydroxy vitamine D.

**O-CPC** : O-Crésol Phtaléine-Complexone.

**P** : Phosphore.

**pH** : Potentiel Hydrogène.

**Pi** : Phosphore inorganique.

**pg/ml** : Picogramme par millilitre

**PTH** : Parathormone.

**Q** : Quartile.

**RIA** : Radio Immuno Assay.

## Liste des abréviations

---

**SFBC** : Société Française de Biologie Clinique.

**UV** : Ultra -Violet.

**UVB** : Ultra-Violet B.

**Vii** : Variabilité Intra-Individuelle.

**Vit D** : Vitamine D.

**VR** : Valeur de Référence.

**μl** : Microlitre.

**λ** : Longueur d'onde.

**1,25 Di OH Vit D 3** : 1,25-dihydroxy vitamine D3.

### Liste des figures

<i>Figure 1: Filiation entre les différents termes recommandés définissant le concept de valeur de référence .....</i>	<i>5</i>
<i>Figure 2 : Relation entre les différents termes employés dans la définition du concept de valeur de référence.....</i>	<i>6</i>
<i>Figure 3: Absorption et émission de photons .....</i>	<i>10</i>
<i>Figure 4: Schéma d'une cellule d'absorption .....</i>	<i>11</i>
<i>Figure 5: Principaux déterminants de la régulation de la parathormone (PTH) et principales actions de la PTH.....</i>	<i>19</i>
<i>Figure 6: Structure biochimique de la vitamine D.....</i>	<i>20</i>
<i>Figure 7: Liste non exhaustive de facteurs de variation biologique présentés sous forme de mots clés.....</i>	<i>30</i>
<i>Figure 8: Action de validation des intervalles de référence prés existés .....</i>	<i>39</i>
<i>Figure 9: Répartition de la population selon le sexe.....</i>	<i>58</i>
<i>Figure 10: Répartition de la population selon l'âge.....</i>	<i>59</i>
<i>Figure 11: Distribution de la population en fonction du sexe selon la tranche d'âge.....</i>	<i>60</i>
<i>Figure 12: Répartition de la population selon la région.....</i>	<i>60</i>
<i>Figure 13: Répartition des valeurs de parathormone de notre population.....</i>	<i>61</i>
<i>Figure 14: Distribution des valeurs de parathormone de notre population.....</i>	<i>62</i>
<i>Figure 15: L'évolution de parathormone en fonction de l'âge.....</i>	<i>62</i>
<i>Figure 16: Répartition des valeurs de la calcémie de notre population.....</i>	<i>63</i>
<i>Figure 17: Distribution des valeurs de la calcémie de notre population.....</i>	<i>64</i>
<i>Figure 18: L'évolution de calcémie en fonction de l'âge.....</i>	<i>64</i>
<i>Figure 19: Répartition des valeurs de phosphorémie de notre population.....</i>	<i>65</i>
<i>Figure 20: Distribution des valeurs de la phosphorémie de notre population.....</i>	<i>66</i>
<i>Figure 21: L'évolution de phosphorémie en fonction de l'âge.....</i>	<i>66</i>
<i>Figure 22: Répartition des valeurs de la magnésémie de notre population.....</i>	<i>67</i>
<i>Figure 23: Distribution des valeurs de la magnésémie de notre population.....</i>	<i>68</i>
<i>Figure 24: L'évolution de la magnésémie en fonction de l'âge.....</i>	<i>68</i>
<i>Figure 25: Répartition des valeurs de l'albuménémie de notre population.....</i>	<i>69</i>
<i>Figure 26: Distribution des valeurs de l'albuménémie de notre population.....</i>	<i>70</i>
<i>Figure 27: L'évolution de l'albuménémie en fonction de l'âge.....</i>	<i>70</i>



Liste des tableaux

<i>Tableau I : Repères chronologiques.....</i>	4
<i>Tableau II: Avantages et inconvénients de la spectrophotométrie .....</i>	11
<i>Tableau III : Les cinq critères des immuno-dosages .....</i>	12
<i>Tableau IV : Avantages et inconvénients d'immunodosage .....</i>	13
<i>Tableau V : Application d'immuno-dosage dans le dosage de parathormone .....</i>	13
<i>Tableau VI : Apports et besoins du calcium.....</i>	14
<i>Tableau VII : Apports et besoins du phosphore .....</i>	15
<i>Tableau VIII :Les apports et les besoins du magnésium .....</i>	25
<i>Tableau X : Méthode analytique de dosage des différents paramètres.....</i>	50
<i>Tableau XI : Procédures recommandées en fonction de la taille d'échantillon et de la distribution .....</i>	52
<i>Tableau XII : Répartition de notre population selon l'âge.....</i>	58
<i>Tableau XIII: Répartition de la population d'étude en fonction du sexe et selon la classe d'âge. ....</i>	59
<i>Tableau XIV : Statistiques descriptives de notre population pour la parathormone .....</i>	61
<i>Tableau XV: Etablissement d'intervalle de référence de notre Population.....</i>	62
<i>Tableau XVI: Transférabilité de l'intervalle du siemens immulite.....</i>	63
<i>Tableau XVII: Statistiques descriptives de notre population pour la calcémie.....</i>	63
<i>Tableau XVIII: Etablissement d'intervalle de référence de notre population .....</i>	64
<i>Tableau XIX: Transférabilité de l'intervalle de RXL.....</i>	65
<i>Tableau XX: Statistiques descriptives de notre population pour la phosphorémie. ....</i>	65
<i>Tableau XXI: Etablissement d'IR de notre Population.....</i>	66
<i>Tableau XXII: Transférabilité d'intervalle d'ADVIA. ....</i>	67
<i>Tableau XXIII: Statistiques descriptives de notre population pour la magnésémie .....</i>	67
<i>Tableau XXIV: Etablissement d'IR de notre Population.....</i>	68
<i>Tableau XXV: Transférabilité d'intervalle de RXL. ....</i>	69
<i>Tableau XXVI: Statistiques descriptives de notre population pour l'albuminémie. ....</i>	69
<i>Tableau XXVII: Etablissement d'intervalle de référence de notre Population. ....</i>	70
<i>Tableau XXVIII: Transférabilité d'intervalle d'ADVIA.....</i>	71
<i>Tableau XXIX: Résumé des résultats obtenus. ....</i>	71
<i>Tableau XXX: Observation des modifications du paramètre en fonction de l'âge.....</i>	72
<i>Tableau XXXI: Etudes similaires comparées à notre étude. ....</i>	74

## Sommaire

Liste des abréviations.....	I
Liste des figures .....	IV
Liste des tableaux .....	V

Introduction générale.....	1
Problématique.....	3

## REVUE DE LA LITERATURE

<b>I. Considérations générales .....</b>	<b>4</b>
<i>I.1. Historique.....</i>	<i>4</i>
<i>I.2. Définition des termes.....</i>	<i>5</i>
<i>I.3. Les phases d'analyses.....</i>	<i>6</i>
I.3.1. La phase pré-analytique.....	6
I.3.2. La phase analytique .....	7
I.3.3. La phase post-analytique .....	8
<i>I.4. Contrôle qualité.....</i>	<i>9</i>
<i>I.5. Méthodes de dosage .....</i>	<i>9</i>
I.5.1. La spectrophotométrie d'absorption moléculaire.....	9
I.5.2. L'immunochimie .....	12
<b>II. Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique .....</b>	<b>14</b>
<i>II.1. Métabolisme calcique.....</i>	<i>14</i>
<i>II.2. Métabolisme du phosphore.....</i>	<i>15</i>
<i>II.3. Os et sa formation .....</i>	<i>17</i>
<i>II.4. Régulation du métabolisme phosphocalcique .....</i>	<i>17</i>
II.4.1. Parathormone PTH.....	17
II.4.2. Vitamine D =1,25DiOHcalciférol= calcitriol .....	19
II.4.3. Calcitonine .....	21
II.4.4. Autres hormones .....	21
<i>II.5. Exploration biochimique .....</i>	<i>21</i>
II.5.1. Bilan phosphocalcique standard.....	21
II.5.1.1. Calcium .....	21
II.5.1.2. Phosphore.....	22
II.5.2. Bilan spécialisé.....	23
II.5.2.1. Parathormone PTH.....	23
II.5.2.2. Calcitonine .....	24
II.5.2.3. Vitamine D.....	24
II.5.3. Métabolisme du magnésium .....	25
II.5.4. Albumine.....	26
<b>III. Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte .....</b>	<b>27</b>
<i>III.1. Les réglementations et les recommandations.....</i>	<i>27</i>
III.1.1. La norme ISO 15189.....	27
III.1.2. Recommandations des organismes internationaux .....	27
<i>III.2. Intérêt des valeurs de référence .....</i>	<i>28</i>
III.2.1. Intérêt lors du dépistage et du diagnostic médical.....	28
III.2.2. Intérêt lors du pronostic et du suivi thérapeutique.....	28

III.2.3. Intérêt en épidémiologie .....	28
<i>III.3. Les paramètres influençant les valeurs de référence .....</i>	<i>29</i>
III.3.1. Selon la variabilité biologique .....	29
III.3.2. Selon les conditions du dosage .....	31
III.3.3. Selon le principe du dosage .....	32
<i>III.4. Protocole d'établissement des intervalles de référence .....</i>	<i>32</i>
<i>III.5. Stratégie pour l'établissement des valeurs de référence .....</i>	<i>32</i>
III.5.1. La sélection des individus de référence .....	33
III.5.2. Préparation des individus pour le prélèvement .....	34
III.5.3. Le traitement des spécimens biologique .....	35
III.5.4. L'analyse biochimique par des méthodes fiables .....	36
III.5.5. Le traitement statistique des résultats obtenus .....	36
III.5.6. Transférabilité .....	38
III.5.7. Traçabilité .....	39

## NOTRE ETUDE

<b>I. Objectifs de l'étude.....</b>	<b>40</b>
<b>II. Matériels et méthodes.....</b>	<b>41</b>
<i>II.1. Cadre de l'étude.....</i>	<i>41</i>
<i>II.2. Type et période d'étude.....</i>	<i>41</i>
<i>II.3. Population d'étude.....</i>	<i>41</i>
II.3.1. Echantillonnage .....	41
II.3.2. Critères d'inclusion .....	42
II.3.3. Critères d'exclusion .....	42
<i>II.4. Matériels expérimentaux .....</i>	<i>42</i>
II.4.1. Matériels de prélèvement .....	42
II.4.2. Matériels d'analyse .....	43
II.4.3. Matériels biologiques .....	43
<i>II.5. Méthodes d'études .....</i>	<i>43</i>
II.5.1. Etape pré-analytique.....	43
II.5.2. Etape analytique .....	46
II.5.3. Etape post-analytique : .....	51
<i>II.6. Protocole .....</i>	<i>56</i>
<b>III. Résultats .....</b>	<b>58</b>
<i>III.1. Données sociodémographiques .....</i>	<i>58</i>
<i>III.2. Résultats des différents paramètres .....</i>	<i>61</i>
III.2.1. Parathormone .....	61
III.2.2. Calcémie .....	63
III.2.3. Phosphorémie.....	65
III.2.4. Magnésémie .....	67
III.2.5. Albuminémie .....	69
<b>IV. Discussion .....</b>	<b>73</b>
<b>V. Recommandations et actions correctives.....</b>	<b>81</b>
<b>Conclusion générale .....</b>	<b>82</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>.....</b>
<b>Annexe .....</b>	<b>.....</b>
<b>Résumé .....</b>	<b>.....</b>

# **Introduction**

## **générale**

# Introduction générale

---

## Introduction générale

La biologie médicale consiste souvent à doser des molécules contenues dans les liquides corporels, dont le but est d'apprécier un état physiologique ou pathologique en mesurant le degré de leurs modifications qualitatives ou quantitatives **(1)**.

La notion de valeur de référence a été introduit en médecine humaine à partir de la fin des années mille neuf cent soixante **(2)**. Elle représente les fluctuations des concentrations d'analytes sanguins dans des groupes d'individus bien caractérisés selon des critères bien définis (population de référence) sur la base d'études statistiques **(3)**.

La contribution à l'établissement des valeurs de référence mettra à la disposition des cliniciens une banque de données qui leur aidera à confirmer un diagnostic, de prendre une décision thérapeutique, de vérifier un état de santé, et de fixer une limite de décision adaptée à chaque cas particulier **(4-6)**.

Les intervalles de référence représentent les limites à l'intérieur desquelles le résultat d'un test devrait se situer pour un sujet en bonne santé ou n'ayant pas une maladie **(1)**.

L'interprétation des résultats de laboratoire de biologie médicale est un problème de santé. Ceci est due aux nombreuses variations physiologiques (l'âge, sexe... etc.) au sein de même individu, il existe d'autres facteurs tels que les origines ethniques, environnementale ainsi que les habitudes alimentaires, ceci explique que l'utilisation de valeurs de référence d'une population donnée par une autre population fait courir le risque de diagnostic clinique par excès ou par défaut **(1)(4)**.

Plusieurs études locales mettent l'accent sur l'intérêt des valeurs de référence des paramètres biochimiques mais celles relatives à l'établissement des intervalles de référence restent limitées.

Par conséquent, la présente étude vise à définir les intervalles de référence de quelques paramètres biochimiques d'intérêt médical chez l'adulte sain.

Elle s'intéressera, en second lieu, à évaluer l'intervalle de référence de notre population ainsi que l'influence de l'âge sur ces paramètres.

En raison du grand espace de l'Algérie et ses diverses habitudes alimentaires et mode de vie, les valeurs de référence peuvent varier d'une région à l'autre **(1)**.

## **Introduction générale**

---

Vu l'importance que revêt l'établissement des valeurs de référence pour une population donnée au plan diagnostique et scientifique, il nous a paru indispensable de contribuer à l'établissement des valeurs de référence de quelques paramètres biochimiques propre à la population de Tlemcen.

# Problématique

---

## Problématique

Vu que la majorité des réactifs utilisés en Algérie sont des réactifs étrangers et vu que la plupart de nos laboratoires utilisent des valeurs de référence des fournisseurs et sachant qu'il y a une différence importante entre la population algérienne et la population étrangère de point de vue géographique, démographique, ethnique, génétique, alimentaire, et environnementale ainsi que l'existence d'une différence dans les procédures pré-analytiques et les performances analytiques, on a constaté qu'il y a une différence significative de quelques paramètres biochimiques c'est pourquoi nous avons calculé les intervalles de référence de la population tlemcénienne et les comparer avec les intervalles de référence des fournisseurs en étudiant au même temps la transférabilité.

Est ce qu'il y a une différence significative entre les valeurs qu'on va calculer et les valeurs des fournisseurs et ces valeurs seront-ils transférables ?

# **I. Considérations générales**



# Considérations générales

## I. Considérations générales

### I.1. Historique

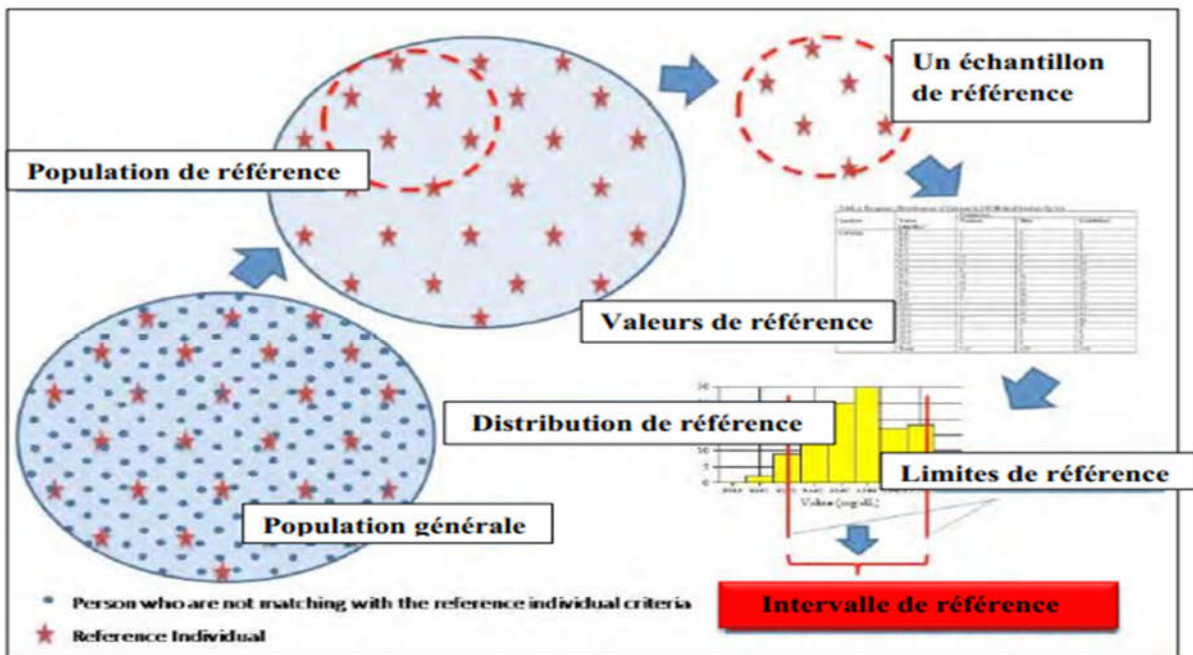
Tableau I : Repères chronologiques.

L'année	L'événement
Depuis l'antiquité	Le concept de valeur de référence remplaçait la notion de normalité dont la définition n'était pas claire (7).
1969	Le premier concept de valeur de référence a été proposé par Gras Beck et Saris dont le but de mieux exprimer les variations des concentrations sanguines des différents paramètres chez un groupe d'individus (8).
1970	Le concept de valeur de référence a été abordé par un groupe scandinave (8-11).
1980	Le concept de valeur de référence a été complété par des nombreux travaux des sociétés nationales (française et espagnole) (8, 12).
Entre 1980 et 2000	GBEA et la norme ISO 15189 pour les laboratoires de biologie médicale et la directive 98/79/CE pour les industriels du diagnostic in vitro, prescrivent la mention des limites de référence sur les comptes-rendus d'analyse et sur les notices de réactifs du laboratoire (12). Les experts réunis proposaient l'utilisation des méthodes statistiques et ils définissaient une valeur de référence comme une valeur observée chez un individu de référence, pour un paramètre donné, puis ils définissaient les limites de référence (8).
2008	Un groupe de travail commun au CLSI et à IFCC-LM a donc révisé les documents publiés précédemment (8).
2010	Enfin, il a été publié un document commun sous le titre « Defining, Establishing and Verifying Reference Intervals in Clinical laboratory : Approved Guideline-Third Edition – C28-A3 11» (12).

Cependant, en Algérie peu d'études ont été menées pour fixer les valeurs de référence de la population algérienne, ce qu'est très important pour pouvoir interpréter correctement les résultats des analyses médicales.

# Considérations générales

## I.2. Définition des termes



**Figure 1:** Filiation entre les différents termes recommandés définissant le concept de valeur de référence (1).

Pour mieux comprendre le concept de valeur de référence, il est nécessaire d'étudier la biologie de l'homme sain.

La valeur obtenue lors de la mesure d'un paramètre biochimique devrait être située par rapport à ensemble des valeurs possibles :

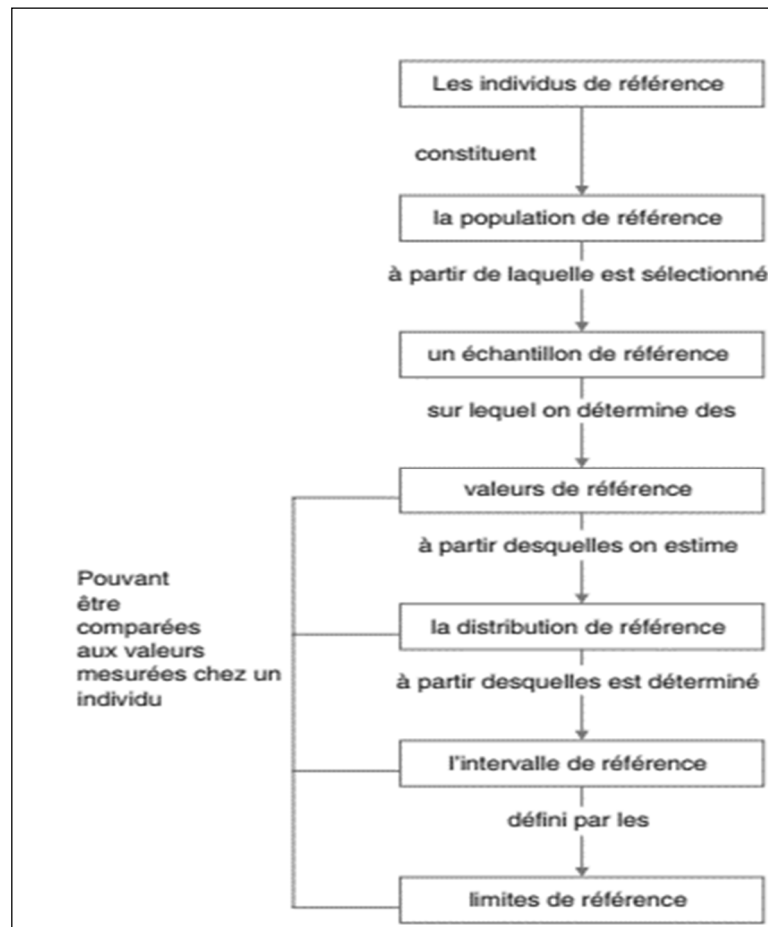
- Valeurs normales : ce sont des valeurs mesurées sur des individus non triés, n'ayant pas modifiés leurs conditions habituelles de vie ;
- Valeurs de référence : ce sont des valeurs mesurées sur des individus en bonne santé se trouvant dans des conditions soigneusement décrites (4).

-En biologie médicale, il existe plusieurs termes en relation avec le concept de valeur de référence. Afin d'éviter une ambiguïté entre ceux, il est important de les définir :

- Valeurs usuelles : ce sont des valeurs obtenues sur des populations dont plusieurs facteurs de variation n'ont pas été suffisamment contrôlés, c'est-à-dire des populations hétérogènes ;
- Valeur observée : valeur d'un analyte qui doit être comparée à des valeurs de référence, à la distribution de référence, aux limites de référence ou à l'intervalle de référence ;
- Individu de référence : un sujet sélectionné selon des critères bien connus ;
- Population de référence : la somme des individus de référence ;

## Considérations générales

- Intervalle de référence : l'intervalle entre deux limites de référence, auquel les valeurs doivent être incluses ainsi que les deux limites ;
- Echantillon de référence : un sous-groupe formé d'un nombre adéquat d'individus de référence ;
- Distribution de référence : c'est la dispersion des valeurs de référence ;
- Limites de référence : ce sont les limites qui définissent l'intervalle de référence, qui sont au nombre de deux (2, 4, 11, 12).



**Figure 2** : Relation entre les différents termes employés dans la définition du concept de valeur de référence (11, 12).

### I.3. Les phases d'analyses

Les phases d'analyses sont le processus central du laboratoire, il contient la phase pré-analytique, la phase analytique, et la phase post-analytique.

#### I.3.1. La phase pré-analytique

##### I.3.1.1. Généralité

La phase pré-analytique c'est une étape cruciale du processus analytique, elle couvre l'ensemble des étapes commençant par la prescription jusqu'à l'analyse proprement dit (13).

## Considérations générales

---

Cette phase se déroule en deux étapes, l'une externe au laboratoire qui comporte : la préparation du patient, le choix du bon moment du prélèvement de l'échantillon, les coordonnées du patient et le formulaire de demande d'examens, le choix du bon tube, le prélèvement lui-même, la conservation adéquate jusqu'au moment de l'analyse, sans oublier le transport, la stabilité des échantillons pour les analyses demandées ultérieurement, l'examen de qualité des prélèvements à la recherche des éléments particuliers ;

L'autre s'effectue à l'intérieur du laboratoire qui devrait commencer par une validation de la qualité du prélèvement ainsi que les techniques de conservation (14, 15).

Ce processus peut être influencé par des paramètres qui sont classés en :

-Paramètres non modifiables : sexe, race, âge, et facteurs génétiques ;

-Paramètres modifiables : variations d'horaire, alimentation, poids, exercice physique, médicaments, la position corporelle lors de la prise de sang, etc (15).

### **I.3.1.2. La phase pré-analytique et la détermination des valeurs de référence**

La phase pré-analytique joue un rôle très important dans la détermination des VR par le bon recrutement des patients, le respect des règles du prélèvement et son bon acheminement jusqu'au laboratoire, afin de prévenir des éventuels dysfonctionnements et d'optimiser et sécuriser telle ou telle étape de cette procédure (16).

### **I.3.2. La phase analytique**

#### **I.3.2.1. Généralité**

C'est un processus complexe qui comprend toutes les étapes incluant un ensemble de moyens analytiques, qui est constitué d'une (ou plusieurs) méthode (s), d'un (ou plusieurs) appareil(s), d'un (ou plusieurs) réactif (s), d'un (ou plusieurs) échantillon (s) de calibrage, d'un (ou plusieurs) échantillon (s) de contrôle, qui permet de réaliser la détermination d'un constituant selon un mode opératoire bien défini (17).

#### **I.3.2.2. La phase analytique et la détermination des valeurs de référence**

La phase analytique joue un rôle très important dans la détermination des VR par :

-La description de l'appareil choisi ;

-Le choix de la méthode de dosage (ou d'analyse) ;

-La fiabilité des méthodes analytiques utilisées (contrôle de qualité : évaluation de l'exactitude et de la précision) ;

## Considérations générales

---

-L'instrumentation et réactifs : chaque instrument doit être accompagné d'un programme de maintenance et mode d'emploi ;

-La validation d'une méthode d'analyse quantitative (dosage): La vérification d'une technique est basée sur l'évaluation des performances du processus analytique, à les quantifier en suivant un protocole opératoire standard puis à les juger par rapport aux critères définis (**1, 4, 18**)(**19**).

### **I.3.3. La phase post-analytique**

#### **I.3.3.1. Généralité :**

Ce processus comprend tous les événements qui peuvent se produire après l'analyse (**20**). Les résultats doivent être donnés aux malades, sans oublier les déchets biologiques qui doivent être éliminer conformément aux procédures du laboratoire et dans le respect de la réglementation du pays. Elle comprend aussi la validation, l'interprétation contextuelle du résultat ainsi que sa communication appropriée au prescripteur (**20**).

#### **I.3.3.2. La phase post analytique et la détermination des valeurs de référence**

La phase post analytique joue un rôle très important dans la détermination des VR par la validation analytique et clinique qui doit passer par un contrôle qualité rigoureux.

##### **a. La validation analytique (statistique)**

La validation des résultats est assurée par un spécialiste responsable au sein d'un laboratoire d'étude. Cependant, en leur absence elle sera assurée par les assistants biologistes du laboratoire. Elle ne doit être effectuée qu'après avoir vérifié les indicateurs de bon fonctionnement des appareils et pris connaissance des résultats du contrôle de qualité interne (**21**). Elle doit être soumise à des procédures précises et écrites (**22**).

##### **b. La validation clinique**

La validation clinique et l'interprétation des résultats dans la phase post analytique dépend des VR. Les résultats doivent être revus avant d'être soumis à la validation définitive par le spécialiste médical, ceci consiste à documenter la procédure utilisée pour valider et enregistrer les résultats obtenus. Elle consiste aussi à comparer les résultats avec le rapport clinique du médecin et s'assurer qu'il y a une concordance entre la clinique et le résultat.

Le laboratoire doit définir les valeurs de décision clinique, documenter la base des IR et communiquer ces informations aux utilisateurs (**20**).

## Considérations générales

---

Dans le cas d'établissement des VR, les valeurs obtenues ne doivent pas être loin des valeurs préétablies par les établissements spécialisés (3, 23).

### I.4. Contrôle qualité

Le laboratoire de biologie médicale procède au contrôle de qualité rigoureux des résultats des examens biologiques dans les trois phases de processus analytique, dont le but est d'analyser et d'interpréter les résultats obtenus (24, 25).

Le développement de l'assurance qualité dans le domaine de la santé était inévitable tant que le moindre erreur peut avoir des conséquences graves (25).

### I.5. Méthodes de dosage

#### I.5.1. La spectrophotométrie d'absorption moléculaire

##### I.5.1.1. Description

La spectrophotométrie utilise la lumière pour faire des études qualitatives ou quantitatives des molécules dans différents milieux (26-28).

La spectrophotométrie d'absorption moléculaire mesure l'absorption de la lumière à travers les substances à certaines longueurs d'ondes. C'est la méthode la plus utilisée en biologie médicale (26-28).

#### a. Emission d'un rayonnement

Le passage d'une particule d'un niveau d'état excité à un niveau énergétique inférieur engendre une libération d'un photon. Chaque rayon émis est caractérisé par son spectre d'émission, spectre de raies, spectre de bande et spectre continu (18).

#### b. Absorption d'un rayonnement

Lorsqu'un solide, un liquide, ou un gaz, est traversé par un rayonnement, certaines longueurs d'ondes seront absorbées d'une manière sélective par les particules existantes dans les milieux traversés. L'augmentation d'énergie d'une molécule, un atome, ou un ion liée à l'absorption d'un photon entraîne le passage à un état excité (18).

## Considérations générales

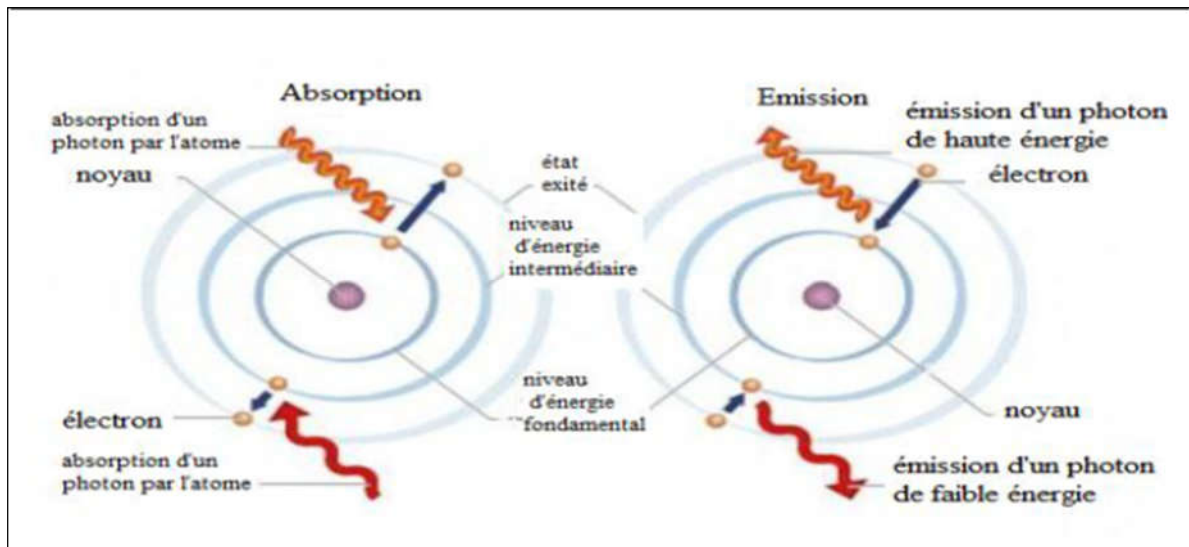


Figure 3: Absorption et émission de photons (26-28).

### I.5.1.2. Application

#### a. Etude qualitative

La mesure de variation d'absorption d'une substance en fonction de la longueur d'onde permis de tracer un spectre d'absorption dans l'UV et le visible (18).

#### b. Etude quantitative

Le concept de la spectrophotométrie est basé sur la loi de Beer-Lambert. Bér (1729) et Lambert (1760) ont proposé d'observer l'atténuation du faisceau lumineux afin de prédire la concentration inconnue d'un composé ou d'un soluté dans un solvant (26-28).

La loi de Beer-Lambert relie l'absorption à une longueur d'onde  $\lambda$ , et concentration  $c$  des molécules qui absorbent. Si l'intensité du rayonnement incident à la longueur d'onde  $\lambda$ , est  $I_\lambda^0$ , alors l'intensité après traversée de la cellule sera  $I_\lambda$ .

$I_\lambda$  et  $I_\lambda^0$  sont reliées par la relation : (26, 28, 29)

$$I_\lambda = I_\lambda^0 e^{-\varepsilon_\lambda \ell c}$$

L'absorbance est donnée par la relation :

$$A_\lambda = 1g \frac{I_\lambda^0}{I_\lambda} = \varepsilon_\lambda \ell c$$

Avec :

$A_\lambda$ : absorbance du milieu à la longueur d'onde  $\lambda$ .

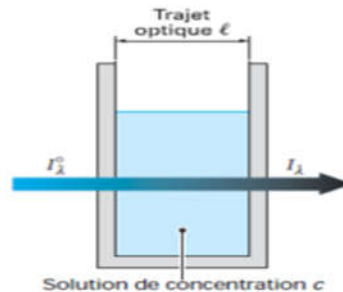
$\lambda$ : longueur d'onde exprimée en nm.

## Considérations générales

$\epsilon_\lambda$ : coefficient spécifique d'absorbance molaire (ou coefficient d'extinction molaire en  $L \cdot \text{mole}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ).

$\ell$  : trajet optique de la cellule en cm.

$c$  : concentration molaire en  $\text{mole} \cdot L^{-1}$  des molécules absorbantes.



**Figure 4:** Schéma d'une cellule d'absorption (26-28).

Le schéma explique les variables utilisées : L'absorbance  $A_\lambda$  est donc proportionnelle à la concentration  $c$  des molécules de l'espèce qu'absorbe à cette longueur d'onde (26-28).

### c. Applications analytiques

Les principaux domaines d'application sont :

- ✓ L'identification des composés de structures voisines ;
- ✓ L'analyse biochimique et toxicologique ;
- ✓ Le dosage des médicaments (formes galéniques) ;
- ✓ Le dosage des ions minéraux après complexation (18).

#### I.5.1.3. Avantages et inconvénients :

**Tableau II:** Avantages et inconvénients de la spectrophotométrie (30).

Avantages	Inconvénients
-Rapide ;	-Équipements coûteux ;
-Mesure non destructive des analytes ;	-Nécessite de validation de modèle, de calibration ;
-Pas d'extraction ;	-Connaissance des méthodes statistiques ;
-Pas de purification ;	-Faible sensibilité.
-Opération facile.	



## Considérations générales

### I.5.2. L'immunochimie

#### I.5.2.1. Description

Les immuno-dosages représentent l'ensemble des méthodes analytiques d'exploration et de quantification mettant en jeu la réaction antigène-anticorps.

Pour pouvoir suivre ces associations antigène-anticorps à l'échelle macroscopique, un troisième élément a été utilisé : le traceur qui résulte de la modification de l'anticorps ou de l'antigène par ajout d'un marqueur (31).

#### I.5.2.2. Principes des immunodosages

On peut dégager 05 critères pour décrire les immuno-dosages (30-33).

**Tableau III** : Les cinq critères des immuno-dosages (30-33).

Type du dosage	Non compétitif (sandwich, immunométrique)	
	Compétitif	
L'existence ou non d'une étape de séparation des formes liées et libres de l'hormone.	Dosage en phase hétérogène +++ (avec séparation).	
	Dosage en phase homogène (sans séparation) anciennes méthodes.	
Le système traceur	Radioélément « RIA »	Marquage chaud
	Enzyme « EIA »	Marquage froid
	Fluorescent « FIA »	
	ChimiLuminescent « CLIA »	
	ElectroChimiLuminescent « ECLIA »	
Le support utilisé pour la réaction	Réaction en phase liquide (ancienne)	
	Réaction en phase solide +++ (Puits, billes, microparticules)	
L'ordre d'addition des réactifs	Dosage en une étape (addition simultanée).	
	Dosage en deux étapes (addition séquentielle).	

## Considérations générales

### I.5.2.3. Avantages et inconvénients

**Tableau IV : Avantages et inconvénients d'immunodosage (30, 32).**

Avantages	Inconvénients
<ul style="list-style-type: none"> <li>-Simple préparation d'échantillon ;</li> <li>-Technique automatisable et facile ;</li> <li>-Faible cout d'analyse et le haut débit associé à ces techniques ;</li> <li>-Permet l'analyse simultanée de 96 ou 384 échantillons sur le même support ;</li> <li>-Très forte sensibilité.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-La présence d'une molécule possédant un épitope semblable à l'épitope de l'antigène à analyser peut entraîner une réaction avec l'anticorps utilisé, et ceci peut aboutir à une sous-estimation de la concentration de l'analyte et/ou de faux négatifs ;</li> <li>-Manque de spécificité ;</li> <li>-Les réactions croisées avec des molécules interférentes ;</li> <li>-Nécessité de confirmation par des méthodes robustes.</li> </ul>

### I.5.2.4. Application d'immunodosage dans le dosage de parathormone

**Tableau V : Application d'immuno-dosage dans le dosage de parathormone (33-35).**

Hormone	Etape pré-analytique	Variations physiologiques	Méthodes de dosage	Observations
PTH	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Sang (sérum ou plasma recueillis sur tube EDTA)</li> <li>- Acheminement dans la glace et centrifugation rapide.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-3 prélèvements sur 3 jours consécutifs (J1, J2, J3)</li> <li>+Calcémie concomitante.</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Méthode de référence : par immunocapture suivie d'une digestion trypsique et dosage par LC-MS/MS du fragment peptidique « 1-33 » libéré par hydrolyse enzymatique</li> <li>-Méthodes utilisées en pratique MI type sandwich : méthodes de 2ème génération dites PTH « intacte ».</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>L'existence d'autres fragments inactifs de PTH présents en grande quantité dans les sérums des patients atteints d'IRC, et qui sont reconnus par les méthodes de dosage de 1ère et 2ème génération.</li> </ul>

## **II. Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique**

# Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique

## II. Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique

### II.1. Métabolisme calcique

C'est un minéral osseux et un composant majeur du squelette (36).

#### II.1.1. Apports et besoins

Tableau VI : Apports et besoins du calcium (36, 37).

Apports	Besoins
<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Les produits laitiers ;</li><li>✓ Les poissons ;</li><li>✓ Les Légumes ;</li><li>✓ Les Fruits secs.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Enfant : 800 mg/j ;</li><li>✓ Adolescent : 1200 mg/j ;</li><li>✓ Femme enceinte : 1200 mg/j ;</li><li>✓ Adulte de moins de 50 ans : 1000 mg/j ;</li><li>✓ Femme ménopausée : 1200-1500 mg/j.</li></ul>

#### II.1.2. Métabolisme

##### II.1.2.1. Absorption intestinale

-L'absorption du Ca est intestinale. Elle est incomplète en moyenne de 20% de l'apport alimentaire du Ca. Deux mécanismes d'absorption sont possibles :

-L'absorption paracellulaire passive : elle dépend essentiellement de l'apport calcique.

-L'absorption transcellulaire active : elle dépend de l'hormone  $1,25 \text{ di OH Vit D}_3$  (36).

##### II.1.2.2. Elimination rénale

###### a. Filtration glomérulaire du calcium

La quantité du Ca quotidiennement ultrafiltrée par les glomérules est considérable par rapport à celle qui est éliminée dans les urines (36).

###### b. Réabsorption tubulaire

Elle est passive, récupère la quasi-totalité du Ca ultrafiltré, puisque 1 à 3% du Ca filtré est éliminé dans les urines (36).

##### II.1.2.3. Elimination fécale

Constitue le Ca alimentaire qui n'a pas été absorbé (36).

#### II.1.3. Répartition

-Os 99% : existe sous forme de cristaux d'hydroxyapatite  $[\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2]$  ;

## Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique

-Cellule 1% : restant du Ca total du corps se trouve dans les tissus mous et dans l'espace du liquide extracellulaire (36, 38, 39).

Le Ca plasmatique existe à :

- ✓ L'état ionisé (50 %) ;
- ✓ Lié aux protéines (40 %) ;
- ✓ Complexée principalement aux ions citrate et PO<sub>4</sub> (10%) (36, 38, 39).

Le taux normal chez un adulte est compris entre 2,2 et 2,6 mmol.L<sup>-1</sup> de plasma( 90-105 mg/l) (40).

### II.1.4. Rôle

Le Ca joue un rôle crucial dans :

- La minéralisation osseuse ;
- La coagulation sanguine ;
- La contraction musculaire ;
- La conduction nerveuse ;
- Un cofacteur des enzymes et hormones (37).

### II.2. Métabolisme du phosphore

Le phosphore est un sel minéral très important mais peu abondant dans l'organisme humain (36, 37).

#### II.2.1. Apports et besoins

Tableau VII : Apports et besoins du phosphore (41).

Apports	Besoins
<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Produits laitiers (les fromages) ;</li><li>✓ Végétaux ;</li><li>✓ Protéines animales.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ 800 mg/j pour adulte.</li></ul>

#### II.2.2. Métabolisme

##### II.2.2.1. Absorption intestinale

L'absorption intestinale du P s'effectue principalement au niveau duodénal et jéjunal sous la dépendance du calcitriol. Elle implique un double mécanisme :

- ✓ Mécanisme passif : qui prédomine lors des repas ;

## **Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique**

---

- ✓ Mécanisme actif : via le symport sodium-phosphates NPT2b (36, 42).

### **II.2.2.2. Elimination rénale**

Quatre-vingt-cinq pourcent des phosphates inorganiques Pi circulants sont ultra filtrables au niveau du tubule proximal (38).

### **II.2.2.3. Elimination fécale**

Elle concerne les phosphates non absorbés et ceux contenus dans les sucs digestifs (42).

### **II.2.3. Répartition**

Le corps d'un adulte contient environ 700 g. Il se trouve principalement sous forme de phosphates du Ca, du Na ou du K(36).

Il présente une répartition hétérogène :

- ✓ 85 % des phosphates sont liés au Ca au niveau de l'os et les dents ;
- ✓ 14 % se localisent au niveau des cellules des tissus mous ;
- ✓ 0,4 % dans les hématies ;
- ✓ Seulement 0,1 % dans le secteur extracellulaire (36, 42).

La concentration plasmatique physiologique de phosphore exprimée sous forme de phosphate inorganique est de 0,8 à 1,5mmol.L- (2.5 et 4.5mg/dl) chez l'adulte normal (43).

### **II.2.4. Rôle**

#### **✓ Les phosphates osseux**

Des composants essentiels des cristaux d'hydroxyapatite, la forme associée au Ca assure la solidité osseuse et dentaire (36, 42).

#### **✓ Le phosphate des tissus mous**

- La production d'énergie sous forme d'ATP ;
- La signalisation par phénomène de phosphorylation des protéines ;
- La structuration et la stabilisation des acides nucléiques au niveau nucléaire (36, 42).

#### **✓ Les phosphates extracellulaires**

- Un système tampon (36, 43).

# Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique

---

## II.3. Os et sa formation

Le tissu osseux est un tissu conjonctif hautement spécialisé, il se constitue de :

Partie minérale : cristaux d'hydroxyapatite, protège contre les fortes pressions et il confère à l'os sa dureté et sa résistance ;

Partie organique : fibres de collagène + substance fondamentale, protège contre la tension et assure la cohésion ;

Partie cellulaire : ostéoblastes, ostéocyte, les cellules bordantes et ostéoclastes (41).

Le remodelage osseux assure le maintien de l'hémostasie phosphocalcique (36).

L'os adulte subit un remodelage constant, il y'a une résorption de l'os ancien qui est renouvelé, ce processus est permanent. Il s'effectue grâce à deux types de cellules : les ostéoclastes, qui ont pour rôle la destruction d'os ancien (résorption osseuse), et d'autres cellules : les ostéoblastes, qui ont pour rôle la reconstruction d'un os « nouveau » (formation osseuse) (37).

## II.4. Régulation du métabolisme phosphocalcique

La calcémie et la phosphorémie sont des paramètres sanguins indissociables, ses concentrations sont très finement régulées, principalement grâce à la PTH, la vit D et la calcitonine (44).

### II.4.1. Parathormone PTH

#### II.4.1.1. Synthèse et structure

L'hormone parathyroïdienne (PTH) est un grand polypeptide monocaténaire (84 acides aminés) (33,35, 36).

Le fragment 1-34 N-terminal de la PTH représente la partie biologiquement active de la molécule (34,36, 45,47).

#### II.4.1.2. Sécrétion

- La calcémie ionisée est un régulateur majeur de la sécrétion de PTH 1-84 (33, 48) ,en effet :

-L'hypocalcémie stimule la synthèse et la libération de PTH par l'intermédiaire d'un CaSR trouvé sur les cellules parathyroïdiennes, ainsi qu'elle provoque un contrôle transcriptionnel de la PTH par augmentation de sa quantité d'ARNm (33, 35).

-L'hypercalcémie et la vit D l'inhibe par un contrôle transcriptionnel de la PTH (37)(46).

## Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique

---

- La phosphatémie est également un régulateur de la sécrétion de PTH. En situation d'hyperphosphatémie, elle la stimule, au contraire en situation d'hypophosphatémie elle l'inhibe (48, 49).
- En plus du Ca et le P, le Mg à des concentrations plus élevées, il inhibe la sécrétion de PTH. Au contraire ou il est à basse concentration, il la stimule (33, 48).

Un contrôle du marché des dosages de PTH en 2007 - 2008 a permis l'évaluation des notices de 22 dispositifs commercialisés à cette époque. Cette étude a montré que les VR annoncées par les fabricants peuvent varier de 6,2 à 97 pg/ml (34).

### II.4.1.3. Effets physiologiques

Hypercalcémiant et hypophosphorémiant (36,46, 47).

Certains effets sont dus à l'hormone elle-même et d'autres sont médiés par la vitamine D (PTH régule le métabolisme de la vit D) :

- Résorption osseuse du Ca ;
- Synthèse rénale de 1,25 di OH vitD ;
- Réabsorption rénale de Ca (36,46, 47).

En effet la balance calcique est assurée par trois organes : l'os, le rein et l'intestin.

**a- Sur l'os :** parathormone :

- Est l'hormone du remodelage osseux et surtout de la résorption osseuse ;
- Libère le Ca de façon rapide, en augmentant la résorption par les ostéocytes et ostéoclastes, et en freinant l'activité des ostéoblastes ;
- Est inactive sur l'os en absence de vit D (33,35, 36).

**b- Sur le rein :** parathormone :

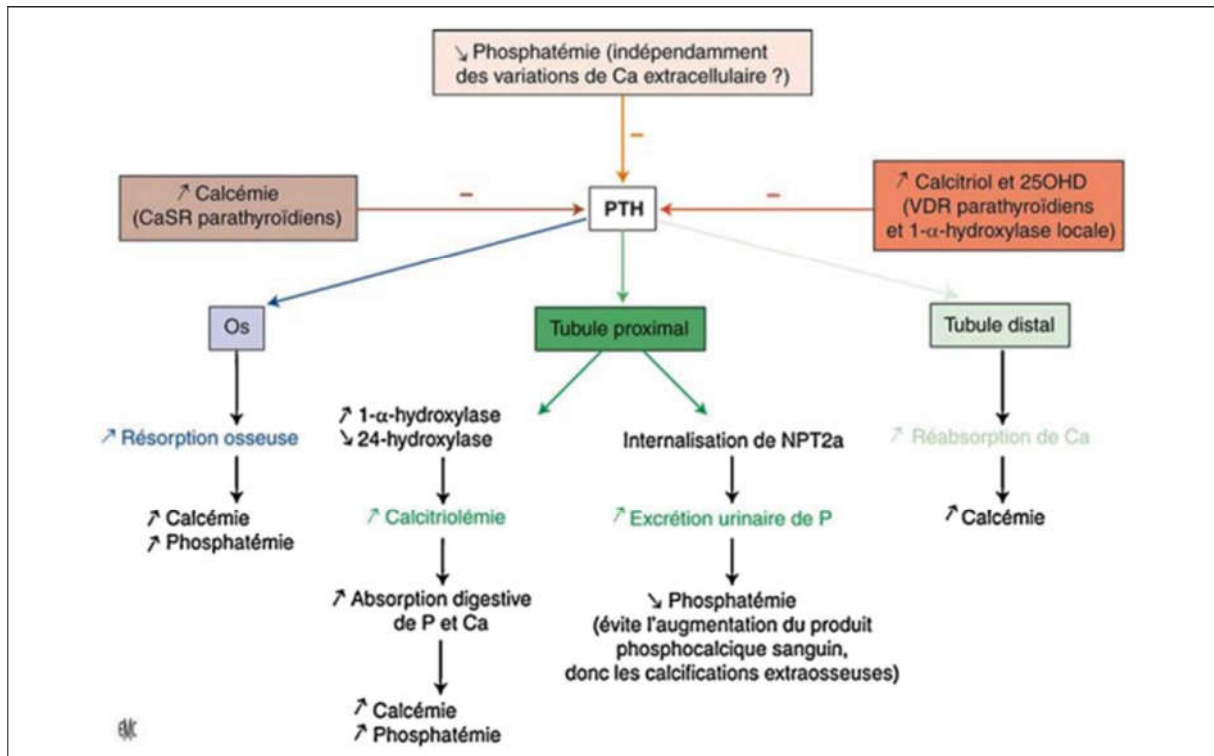
- Augmente la réabsorption du Ca dans le tubule distal ;
- Diminue le phosphate sérique en diminuant sa réabsorption au niveau des tubules proximale et distale ;
- Augmente la conversion de la 25 OH calciférol en 1,25 di OH calciférol par l'intermédiaire de la 1-alpha-hydroxylase dans le tubule proximale (33, 36).

**c- Sur l'intestin :** parathormone :



## Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique

-Pas d'action directe, l'effet se fait par l'intermédiaire de la calcitriol(33, 36).



**Figure 5:** Principaux déterminants de la régulation de la parathormone (PTH) et principales actions de la PTH (50).

### II.4.2. Vitamine D =1,25DiOHcalciférol= calcitriol

C'est une vitamine antirachitique essentiel de l'hémostasie phosphocalcique et le métabolisme osseux de l'organisme (51).

#### II.4.2.1. Structure chimique

La 1,25-dihydroxyvitamine D est une vitamine liposoluble appartenant au groupe des sécostéroïdes (hormone à structure stéroïde) (52).

La vit D existe sous deux formes :

- ✓ La vitamine D2 ;
- ✓ La vitamine D3 ou cholécalférol (53).

## Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique

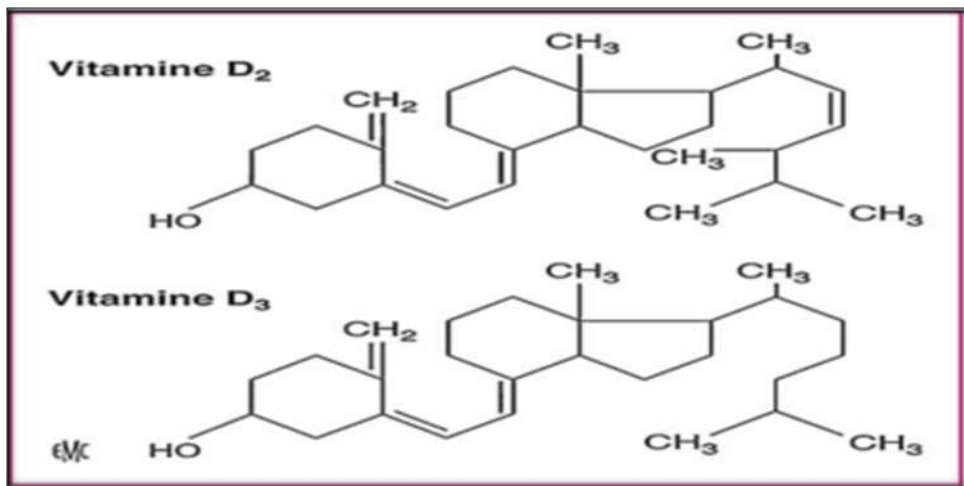


Figure 6: Structure biochimique de la vitamine D (54).

### II.4.2.2. Source

Vit D présente une double origine :

- ✓ Origine endogène : au niveau cutané et sous l'influence du rayonnement UVB ;
- ✓ Origine exogène : alimentation ; les poissons le beurre, la margarine (53, 55).

### II.4.2.3. Effets physiologiques

La vitamine D<sub>3</sub> est principalement connue pour son rôle « phosphocalcique ». Elle est hypercalcémiant hyperphosphorémiant.

- ✓ Absorption intestinale du Ca et de P ;
- ✓ Résorption osseuse du Ca (56).

En effet, la vit D<sub>3</sub> réagit essentiellement sur les quatre niveaux ; intestinal, osseux et rénal, et sur les glandes parathyroïdes :

**a. Au niveau intestinal :** provoque une absorption intestinale accrue du Ca alimentaire et secondairement celle des phosphates ;

**b. Au niveau osseux :** en cas d'hypocalcémie, elle favorise la résorption osseuse du Ca;

**c. Au niveau rénal :** elle augmente la réabsorption tubulaire du Ca et accélère également le transport du Ca et des phosphates par un mécanisme dépendant de la PTH ;

**d. Au niveau des glandes parathyroïdes :** elle exerce un rétrocontrôle négatif sur les glandes parathyroïdes en inhibant la synthèse et la sécrétion de la PTH (53).

## Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique

---

### II.4.3. Calcitonine

#### II.4.3.1. Structure et synthèse

C'est une hormone peptidique synthétisée par les cellules C parafolliculaires de la thyroïde. Elle est constituée d'une seule chaîne de 32 acides aminés (57).

#### II.4.3.2. Sécrétion

- Une hypercalcémie endogène stimule souvent une augmentation de la calcitonine ;
- L'hypermagnésémie induit la sécrétion thyroïdienne de calcitonine ;
- La gastrine peut également induire la sécrétion de calcitonine (57).

#### II.4.3.3. Effets physiologiques

Elle est hypocalcémisante hypophosphorémisante :

- Au niveau de l'os : inhibe les ostéoclastes (inhibant la résorption osseuse) ;
- Au niveau du rein : diminue la réabsorption de phosphate et du Ca ;
- Au niveau de l'intestin : elle n'a pas d'action (35).

### II.4.4. Autres hormones

- **L'hormone de croissance HG**: elle stimule la formation osseuse en agissant sur des récepteurs spécifiques via la stimulation de la synthèse de l'IGF-1 (36, 42) ;
- **L'IGF-1** : stimule l'absorption phospho-calcique intestinale en dépendant du calcitriol. Parallèlement, il stimule la réabsorption tubulaire proximale des Pi(36) ;
- **L'FGF-23** : c'est un important facteur phosphaté circulant (36, 42) ;
- **Œstrogènes** : ils stimulent l'absorption intestinale et réabsorption tubulaire du Ca indépendamment du calcitriol. Ils ont aussi effet phosphaturiant (36, 44) ;
- **Hormones thyroïdiennes**: chez l'adulte, ces hormones jouent un rôle important dans la croissance, la maturation du squelette et sur le remodelage osseux (36).

## II.5. Exploration biochimique

### II.5.1. Bilan phosphocalcique standard

#### II.5.1.1. Calcium

##### a. Prélèvement

##### ✓ Calcémie

-Prélever sur la veine, artère ou au niveau capillaire, le matin à jeun ;

## Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique

---

-Travailler sur tube héparine ou de préférence sur tube sec sans gel séparateur, mais il est préférable d'attendre une coagulation complète ;

-Conserver au froid jusqu'au dosage dans le but d'éviter le changement de pH in vitro (58, 59).

### ✓ Calciurie

-Urines des 24heures (59).

### b. Le dosage

1-La photométrie de flamme: elle n'est pas habituellement utilisée (60, 61) ;

2-La précipitation de l'oxalate : elle constitue toujours la méthode de référence. C'est la méthode la plus ancienne et la plus usuelle pour la détermination de la calcémie (50) ;

3-Méthode colorimétrique (Arsenazo III) : ce dosage permet la détermination quantitative des niveaux de Ca. Elle est basée sur la variation d'absorption à la longueur d'onde du complexe formé par la liaison spécifique de l'Arsenazo III avec le Ca en milieu acide (62).

L'intensité du chromophore bleu-violet formé est proportionnelle à la concentration de Ca total de l'échantillon( 62).

#### La réaction :

Arsenazo III + Ca  $\longrightarrow$  Complexe Arsenazo III-Calcium bleu-violet.

4-Méthode d'o-CPC : les ions Ca réagissent avec l'o-crésol phtaléine complexon (o-CPC) en milieu alcalin pour former un complexe coloré violet. L'intensité de la coloration développée est directement proportionnelle à la concentration de Ca(1).

#### La réaction :

Ca<sup>2+</sup> + o-CPC  $\longrightarrow$  complexe calcium-o-CPC violet.

### c. Intérêt de dosage

Son intérêt se trouve dans l'exploration d'une maladie osseuse, rénale ou hépatique. Cet examen est aussi demandé en cas de suspicion de certains cancers ou si le patient présente des symptômes liés à un problème de glandes parathyroïdes (1).

## II.5.1.2. Phosphore

### a. Prélèvement

## Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique

---

### ✓ Phosphatémie

- Le prélèvement peut se faire le matin à jeun ;
- Sur tube hépariné centrifugé rapidement pour éviter l'hémolyse ou le relargage cellulaire du phosphate ;
- La centrifugation se fait dans un délai inférieur à une heure (36, 44, 58).

### ✓ Phosphaturie

- Urines des 24heures (58).

### b. Dosage

1-Spectrophotométrie (1).

2-Méthode directe au phosphomolybdate : La phosphorémie dosée selon une technique cinétique utilise le molybdate d'ammonium. Les ions de phosphates réagissent en milieu acide avec le molybdate d'ammonium pour former un complexe phospho-molybdique (1).

#### Réaction :

Phosphates + molybdate d'ammonium  $\longrightarrow$  un complexe phospho-molybdique.

### c. Intérêt de dosage

Le dosage sanguin du P est indiqué en cas de troubles osseux ou de troubles suspectés des glandes parathyroïdes. Il est toujours associé à celui du Ca et de la créatinine (1).

## II.5.2. Bilan spécialisé

### II.5.2.1. Parathormone PTH

#### a. Prélèvement

- Effectuer le prélèvement le matin à jeun, sur tube sec sans anticoagulant ;
- Recueillir l'échantillon de sang dans un tube de véni-puncture à bouchon rouge et laisser le sang coaguler pendant environ 30 minutes à température ambiante (34).

#### b. Dosage

Méthode immunologique à double anticorps « sandwich » ou à deux sites :

## **Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique**

---

-La PTH circulante immunoréactive est la somme d'un mélange complexe constitué de PTH intacte (1-84), de fragments N-terminaux (1-34) et de différents types de fragments C-terminaux (36-84,44-84,49-84) inactifs **(63)**.

-Le dosage de PTH « bio-intacte » ou « bioactive » par méthode immunologique à double anticorps monoclonaux spécifiques reconnaît un épitope plus proche de l'extrémité N-terminale **(34, 48, 64)**.

-Elles reconnaissent exclusivement la PTH 1-84 car elles utilisent des anticorps dirigés vers les acides aminés C- (39-84) et N- (1-4) terminaux **(34, 48)**.

### **c. Intérêt de dosage**

Le dosage de PTH peut être prescrit dans différents contextes pathologiques : le plus souvent devant une découverte fortuite d'une hypercalcémie ou hypocalcémie, une ostéoporose, une maladie rénale chronique, un lithiase, et pour orienter le diagnostic en cas de carence en vitamine D **(45, 65)(49)**.

### **II.5.2.2. Calcitonine**

#### **a. Prélèvement**

-Sur tube sec ou hépariné ;

-A jeun, la calcitonine peut être prélevée à tout moment de la journée, mais à distance des repas pour éviter l'interférence potentielle de l'hypergastrinémie **(66)(67)**.

#### **b. Dosage**

Méthode immunologique **(66, 67)**.

### **c. Intérêt de dosage**

La calcitonine sérique est le marqueur sensible et spécifique des cancers médullaires de la thyroïde. C'est un marqueur diagnostique, pronostique et du suivi **(67)**.

### **II.5.2.3. Vitamine D**

#### **a. Prélèvement**

-Sérum ou plasma hépariné, sur des tubes secs **(53, 56)**.

#### **b. Dosage**

## Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique

1-La chromatographie liquide à haute performance couplée à la spectrophotométrie UV : c'était la première méthode de dosage physicochimique des métabolites de la vit D, elle permet de doser et de distinguer les deux formes de Vit D, et d'autres métabolites (68, 69).

2-Dosage radio-immunologique ou immunoluminologique (68, 69).

### c. Intérêt de dosage

Le dosage sanguin de la Vit D est indiqué pour avoir une représentation globale du statut vitaminique D et pour découvrir les anomalies du métabolisme phosphocalcique(53, 69).

### II.5.3. Métabolisme du magnésium

#### II.5.3.1. Apports et besoins

Tableau VIII :Les apports et les besoins du magnésium(70).

Apports	Besoins
<ul style="list-style-type: none"><li>✓ Le lait;</li><li>✓ Les légumes verts ;</li><li>✓ Cacao, chocolat;</li><li>✓ Fruits secs;</li><li>✓ Banane et les épinards.</li></ul>	<ul style="list-style-type: none"><li>✓ 10 à 20 mmol par jour (240 à 500 mg).</li></ul>

#### II.5.3.2. Métabolisme

- Absorption : elle se fait au niveau du jéjunum, favorisée par la Vit D et la PTH et inhibée par l'excès du Ca et les acides gras (42).
- Elimination : se fait par voie urinaire, 90% du Mg filtré subit une réabsorption tubulaire régulée par la PTH (42).

#### II.5.3.3. Répartition

- ✓ 66 % du Mg est stocké dans l'os ;
- ✓ 33 % sont présents dans les cellules (GR) ;
- ✓ 1 % est extracellulaire (42).

La magnésémie est physiologiquement régulée et maintenue dans des limites étroites, entre 0,75 et 1,4 mmol/L (71).

#### II.5.3.4. Rôle

Magnesium agit en association étroite avec le Na, K et Ca. C'est un :

## Les paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique

---

- ✓ Cofacteur enzymatique ;
- ✓ Élément crucial dans la contraction musculaire ;
- ✓ Antistress (70).

### II.5.3.5. Dosage

1-Spectrophotométrie d'absorption atomique (72).

2-Colorimétrie (73).

### II.5.4. Albumine

#### II.5.4.1. Synthèse

L'albumine humaine est la protéine endogène synthétisée par le foie, elle présente plus de la moitié de la concentration des protéines sériques (74, 75).

Le taux normal d'albumine chez un adulte est compris entre 36 - 46 g/l de plasma (1).

#### II.5.4.2. Métabolisme

La demi-vie de l'albumine est d'environ 17 jours. Elle est catabolisée par protéolyse lysosomiale dans la plupart des tissus, en particulier la peau, les muscles, le foie et le rein où elle est éliminée (1, 75).

#### II.5.4.3. Rôle

L'albumine c'est un :

- Transporteur de nombreuses substances endogènes et exogènes ;
- Anti-inflammatoire ;
- Élément essentiel dans le maintien de la pression oncotique (1, 75).

#### II.5.4.4. Dosage

1-Méthode de BCG ;

2-L'électrophorèse des protéines sériques ;

3-Méthodes immunochimiques (1).

Lors de dosage du calcémie ionisée, l'interprétation de la calcémie totale doit prendre en considération la concentration d'albumine sérique en s'appuyant sur une formule classique :

[Ca « corrigé » (mmol/L) = Ca mesuré (mmol/L) + 0,020 ou 0,025 (40 – albumine (g/L))].

Cette formule de correction est issue des travaux de Payne publiés en 1973 (76).



### **III. Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte**

## **Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte**

---

### **III. Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte**

#### **III.1. Les réglementations et les recommandations**

##### **III.1.1. La norme ISO 15189**

###### **III.1.1.1. Définition**

La norme ISO15189 est dirigée aux laboratoires du biologie médicale qui mettent en place un système du management de qualité, elle leur assure une meilleure organisation, une preuve de leur compétence technique et la fiabilité de leurs résultats (1).

###### **III.1.1.2. Quelques exigences concernant les valeurs de référence**

« Le laboratoire doit définir les intervalles de référence biologique ou les valeurs de décision clinique, documenter la base des IR ou valeurs de décision et communiquer ces informations aux utilisateurs » ;

« Si le laboratoire modifie une procédure analytique ou pré-analytique, il doit revoir les IR et les valeurs de décision clinique associés, selon les cas » (1).

##### **III.1.2. Recommandations des organismes internationaux**

###### **III.1.2.1. Pour la détermination des valeurs de référence**

La détermination des IR au LBM se base sur des recommandations fondées sur la « théorie des valeurs de référence » de l'IFCC-LM datant des années 1980. Récemment, ces recommandations ont été révisées par l'IFCC-LM et le CLSI (12, 77).

La ligne directrice C28-A3 publiée par le CLSI et l'IFCC reste toujours la source de référence la plus largement utilisée dans ce domaine (1).

La production des valeurs de référence, traitement de celles-ci, et la présentation des valeurs observées en relation aux données de référence suivent des recommandations strictes en :

- précisant la terminologie qui a relation avec le concept de valeur de référence ;
- précisant un protocole de détermination des limites de référence ;
- déterminant des méthodes statistiques des traitements et d'analyses des données en suivant une méthode simple permettant au LBM de répondre aux impératifs de la réglementation(12, 77).

###### **III.1.2.2. Pour le Transfer des intervalles de référence**

« Des laboratoires individuels devraient s'attacher en priorité à vérifier des IR déterminés ailleurs ». De ce fait, les recommandations IFCC/CLSI exigent de vérifier que les limites de

## **Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte**

---

référence publiées sont applicables à l'exercice du chaque laboratoire et de vérifier aussi la transférabilité de ces valeurs (1, 2, 12, 77).

### **III.2. Intérêt des valeurs de référence**

La santé et la maladie sont définies en fonction de valeur de références. Cette dernière est mise à profit comme index dans multiples circonstances (4).

#### **III.2.1.Intérêt lors du dépistage et du diagnostic médical**

L'établissement des valeurs de référence a pour but de :

- Diagnostiquer ou dépister une maladie ;
- Déterminer des risques avant qu'une pathologie ne soit installée ;
- Confirmer ou conforter un diagnostic médical ;
- Vérifier un état de santé chez un patient ;
- Alerter le patient sur les risques encourus ;
- Evaluer les données du laboratoire et les résultats de l'imagerie en comparant à ceux de référence ;
- Fixer une limite de décision adaptée à chaque cas particulier du patient (4, 78).

#### **III.2.2.Intérêt lors du pronostic et du suivi thérapeutique**

L'établissement des valeurs de référence a pour but de :

- Evaluer l'effet thérapeutique, et/ou de surveiller un risque dû à la prise des médicaments ;
- Poursuivre ou modifier le traitement à des fins de surveillance et de pharmacovigilance ;
- Retarder, voir éviter l'évolution vers certaines complications ;
- Prendre en charge des complications le plutôt possible (4, 79).

#### **III.2.3.Intérêt en épidémiologie**

L'établissement des valeurs de référence permet de :

- Mesurer la prévalence de certaines pathologies dans une population à l'échelle régional, national ou international ;
- Comparer des valeurs observées sur des populations très différentes par l'étude de différence ethnique, de régime alimentaire, de régime socioculturel ou génétique ;
- Suivre l'évolution des conditions de transférabilité des valeurs de référence d'un laboratoire à l'autre, ou d'un pays à l'autre, pourront être précisées (4, 79).

## **Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte**

---

Enfin, les intérêts multiples des VR justifient le bien fondé de notre travail.

### **III.3. Les paramètres influençant les valeurs de référence**

La valeur de référence dépend de plusieurs paramètres qui influencent la concentration des analytes dans les milieux biologiques.

#### **III.3.1. Selon la variabilité biologique**

Certaines caractéristiques liées à l'individu et aux contaminants peuvent entraîner des variations importantes dans les niveaux biologiques retrouvés chez un individu pour un indicateur donné. Ce qu'on appelle la variabilité biologique **(80)(81)**.

Les variations biologiques peuvent influencer la production des VR lorsqu'elles ne sont pas prises en compte.

- **Type de variabilité biologique**

**1-La variation biologique intra-individuelle** : qui est connue comme la variation biologique aléatoire autour d'un point de consigne au sein d'un même individu ;

**2-La variation biologique interindividuelle** : qui est connue comme étant les variations survenant en raison des points d'équilibre différents des individus différents **(46)**.

# Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte

## III.3.1.1. Facteur de variation biologique

Liste non exhaustive de facteurs de variations biologiques présentés sous forme de mots clés		
Activité physique	Géographie	Race
Age	Grossesse	Radiations
Agression	Groupe ethnique	Rapports sexuels
Alcool	Groupe sanguin	Régime alimentaire
Aliment	Hospitalisation	Régime amaigrissant
Altitude	Hypothermie	Régime végétarien
Allaitement	Hypoxie	Repas
Ambulatoire	Immobilisation au lit	Rythmes annuels
Apesanteur	Jeun(à)	Rythmes circadiens
Bruit	Jeûne	Rythmes hebdomadaires
Café	Lumière	Rythmes saisonniers
Catégorie socio-professionnelle	Massage musculaire	Sang artériel ,capillaire veineux
Chaleur	Masse	Sédentarité
Conditions de travail	Médicaments	Sexe
Conduite auto	Ménopause	Solvants
Cycle menstruel	Métaux lourds	Sommeil
Déficit en vitamine B6	Morphologie	Surface
Eau d'alimentation	Nutrition	Tabac
Effort important	Obésité	Taille
Electrochoc	Ovulation	Température extérieur moyenne
Entraînement	Oxyde de carbone	Température de l'habitat
Environnement	Pli cutané	Traitement des cheveux
Exercice musculaire	Ponction ( localisation de la)	Vitamines
Fièvre	Position debout	Viande
Froid : exposition	Position couchée	
Froid : exposition au froid intense	Pression artérielle	
Fumeur	Profession palpation de la prostate	
Garrot	Puberté	
Génétique		

**Figure 7:**Liste non exhaustive de facteurs de variation biologique présentés sous forme de mots clés(4-6).

Quelques exemples des facteurs de variation biologique détaillés dans annexe I (4, 10).

- **Mesures de la variabilité intra-individuelle**

La variabilité intra individuelle  $V_{ii}$  se définit comme des variations dans la performance chez un individu au cours du temps et / ou au travers de différentes situations (82).

La plupart du temps, lorsqu'on étudie la  $V_{ii}$ , on se situe dans une approche quantitative. Les indices classiques de  $V_{ii}$  sont alors l'écart-type intra-individuel et le  $CV_i$ . On a également utilisé des méthodes de régression pour calculer les indices de variabilité en basant sur le groupe « résidus purifiés » ou sur l'individu lui-même « indice résiduel individuel » (82).

## **Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte**

---

- **Mesures de la variabilité interindividuelle**

La variabilité interindividuelle se découle des plusieurs facteurs tels que les facteurs génétiques, l'alimentation, l'activité physique et l'âge (83).(84, 85).

### **III.3.2.Selon les conditions du dosage**

La variabilité analytique contient essentiellement deux facteurs : facteurs pré-analytiques et facteurs analytiques.

#### **III.3.2.1. Facteurs pré-analytiques**

Afin de réduire les effets liés aux facteurs pré-analytiques, il convient d'étudier la préparation du sujet avant le prélèvement, la collecte et le traitement de l'échantillon (11).

Les critères d'exclusion sont conçus pour sélectionner des groupes d'individus en bonne santé en éliminant les maladies, la grossesse, l'exercice intense, l'usage de drogues ou de l'alcool ou à risque de le devenir(11).

Les critères d'inclusion sont conçus pour classer les individus en différentes sous-classes(11).

Le taux de production et de dégradation des substances dans l'organisme et leurs concentrations dans les fluides corporels sont influencés par plusieurs facteurs tels que la prise de repas, la posture et le moment du prélèvement(10).

Le nombre d'aiguilles utilisées pour la ponction veineuse ainsi que le type du prélèvement sanguin (ouvert ou sous vide) et les additifs utilisés peuvent influencer la concentration des substances dans l'échantillon, après sa collecte, il peut être analysé par des différents types de séparation du caillot du plasma ; centrifugation, la décongélation et la division de l'échantillon ultérieurement analysés(10).

#### **III.3.2.2. Facteurs analytiques**

Les intervalles de référence sont liés à la méthode de mesure qui doit être soigneusement décrite (4, 7).

Les facteurs de variation au fil du temps (y compris les changements d'un lot à l'autre) doivent être contrôlés et maîtrisés. Le biais analytique affecte les résultats de mesure et il peut changer les IR, donc il peut changer l'interprétation des résultats (4, 7).

## **Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte**

---

### **III.3.3. Selon le principe du dosage**

Les valeurs de référence varient considérablement selon le principe du dosage utilisé.

### **III.4. Protocole d'établissement des intervalles de référence**

Le protocole de base de détermination des limites de référence contient une série d'étapes successives parfaitement décrites dans les récentes recommandations de l'IFCC-LM et du CLSI, voici un résumé simplifié :

- Etablir une liste des facteurs de variation biologique et analytique ;
- Déterminer les critères d'exclusion et d'inclusion sur la base d'un questionnaire bien adapté ;
- Rédiger un formulaire de consentement écrit et le faire signer par les individus sélectionnés ;
- Classer les individus de référence sur la base des données du questionnaire ;
- Exclure les individus de l'échantillon de référence en fonction de critères prédéterminés ;
- Définir le nombre adéquat d'individus de référence  $20 < n < 120$  ;
- Préparer les individus sélectionnés pour la collecte de l'échantillon en adéquation avec les procédures habituellement utilisées pour les patients au laboratoire ;
- Recueillir et traiter les échantillons ;
- Collecter les valeurs de référence par l'analyse des spécimens suivant des méthodes bien définies et décrites ;
- Contrôler les valeurs de référence ;
- Etablir un histogramme pour évaluer la distribution des données ;
- Identifier de possible erreurs et/ou des valeurs aberrantes ;
- Analyser les valeurs de référence : sélectionner une méthode statistique puis calculer les limites de référence et l'intervalle de référence ;
- Enregistrer toutes les étapes et les procédures suivies **(1, 10, 12)**.

### **III.5. Stratégie pour l'établissement des valeurs de référence**

Une population de référence doit reprendre au degré d'homogénéité en fonction des critères d'inclusion pour établir un IR. Ce dernier ne peut pas être adapté d'un pays à l'autre à cause de la diversité liée aux caractéristiques ethniques, nutritionnelles, socio-économiques ..**(4)**.

Selon la technique d'échantillonnage direct, les VR sont obtenues selon deux types de sélection :

- **La sélection par tri à posteriori**

## **Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte**

La sélection est effectuée sur une population nombreuse (généralement > 1000), elle sera mise en place après le prélèvement sanguin (4, 9).

Cette méthode est préférable pour tout nouvel analyte ou lorsque les données de la littérature sont peu riches en informations pour déterminer les critères d'inclusion (4, 9).

- **La sélection par tri à priori**

Contrairement à la sélection à posteriori, la sélection par tri à priori s'effectue sur une population limitée (généralement entre 50 et 150). Elle sera mise en place avant le prélèvement sanguin. Les critères d'exclusion et d'inclusion sont bien définis avant la sélection des individus de référence (4, 9).

Dans les deux cas de sélection, il existe un protocole commun qui comporte plusieurs étapes :

- 1-La sélection des individus de référence ;
- 2-La préparation des individus pour le prélèvement ;
- 3-Le prélèvement proprement dit ;
- 4-Le traitement des spécimens biologiques ;
- 5-L'analyse biochimique par des méthodes fiables ;
- 6-Le traitement statistique des résultats obtenus (4-6).

### **III.5.1.La sélection des individus de référence**

Le statut de l'état de bonne santé est particulièrement difficile à établir car il impose la réunion de plusieurs conditions (4-6, 10)

- **Choix des critères d'inclusion**

Les critères d'inclusion : Ces critères permettent de trier un sous ensemble homogène. En pratique nous préconisons de ne pas augmenter leur nombre. Les plus fréquents sont :

- L'âge ;
- Le sexe ;
- La masse corporelle (1, 4-6, 10).

- **Choix des critères d'exclusion**

Contrairement aux critères d'inclusion, ces critères sont non maîtrisables, et variables d'un individu à l'autre, par conséquent il faut essentiellement chercher à exclure les sujets :



## Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte

---

- Atteint d'affections diverses ;
- Prenant des médicaments ;
- Atteint de déviation ou à risque tels que les obèses, les alcooliques, les fumeurs et les consommateurs de cola ;
- Etant dans des états physiologiques particuliers (1, 4, 9, 11, 12).

### III.5.2. Préparation des individus pour le prélèvement

Il est indispensable de contrôler un certain nombre d'études pré-analytiques et analytiques lorsque des valeurs de référence sont produites (2, 10).

#### III.5.2.1. Facteurs biologiques

Détailler dans l'annexe I (Facteurs de variation biologique).

#### III.5.2.2. Facteurs méthodologiques

Ces facteurs sont liés au prélèvement de l'échantillon car il peut y avoir des interférences :

**-In vivo** : avec ; les techniques du prélèvement (utilisation du garrot, tubes à vide,), les équipements (aiguille) et les additifs de séparation du sérum du plasma (anticoagulants, adjuvants). Ces interférences sont causées par un endommagement des cellules, une libération de composants (intra céphaliques tels que le K), par introduction de contaminants (tels que les métaux lourds), ou par inhibition de substances actives par EDTA ;

**-In vitro** : lors de la manipulation de l'échantillon et de l'analyse (4).

#### III.5.2.3. Facteurs à prendre en compte pour le prélèvement

Trois ordres de considérations sont à analyser : en fonction de l'origine du spécimen, de la nature de l'échantillon et de la nature et le matériel de prélèvement :

- **L'origine du spécimen**

L'origine se subdivise en trois possibilités :

- La ponction artérielle a été utilisée surtout pour le dosage des gaz du sang ;
- La ponction veineuse s'effectue en général au pli du coude ;
- Le prélèvement capillaire fait généralement chez les petits enfants (1, 4)(86).

La ponction veineuse reste la plus utilisée (86).

## Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte

---

- **La nature du spécimen**

La nature du spécimen peut être :

- Le sang total : utilisé surtout dans le dosage des gaz du sang ;
- Le sérum : qui a l'avantage d'être plus facile à manipuler (limpidité, stabilité à la conservation, bonne compatibilité avec les appareils automatiques) ;
- Le plasma : qui est immédiatement disponible et le rendement est plus avantageux **(1, 4)**.

Au niveau du choix, le sérum reste le meilleur choix **(1, 4)**.

- **La nature et le matériel de prélèvement**

L'usage des tubes à usage unique sous ou sans vide est un emploi courant pour la majorité des prélèvements. Deux matériaux sont utilisés pour la fabrication des tubes : le verre et la matière plastique **(1, 4)**.

### **III.5.2.4. Les recommandations de base pour le prélèvement**

Sont :

- Le sujet doit être à jeûne depuis 10 heures, mais il peut également boire de l'eau ;
- Le prélèvement doit être effectué le matin entre 7 et 10 heures ;
- Le prélèvement du sang veineux au pli du coude à l'aide d'un garrot peu serré ;
- Pas de fumer deux heures avant le prélèvement ;
- Tout patient doit se reposer environ 5 minutes avant le prélèvement sanguin **(1, 4)**.

### **III.5.3. Le traitement des spécimens biologique**

Certaines conditions peuvent modifier la composition du sang total ou du sérum pendant leurs stockage ainsi qu'au moment de transport comme : la nature de récipient et sa température.

Le traitement de l'échantillon en avant peut également interférer : avec la durée, la température de l'entreposage, la vitesse de centrifugation, les techniques utilisées pour la congélation, la décongélation, et le mélange de l'échantillon...etc **(4-6)**.

C'est pour cela que le sang total doit être prélevé sur tube sec ou hépariné et centrifugé après l'élimination de la fibrine dans les 30 minutes après le prélèvement. Le sérum récupéré est aliquoté et conservé à +4°C et à -80°C jusqu'au dosage **(4-6)**.

Les spécimens hémolysés doivent systématiquement éliminés**(4-6)**.

## **Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte**

---

### **III.5.4.L'analyse biochimique par des méthodes fiables**

La fiabilité se définit comme la confiance accordée aux résultats obtenus à l'aide d'une méthode de dosage, et ceci est en fonction de sa sensibilité, sa spécificité, sa limite de détection, son exactitude et sa précision. Ces deux derniers critères doivent obligatoirement être évalués ou réévalués de manière satisfaisante par un contrôle de qualité journalier(4).

### **III.5.5.Le traitement statistique des résultats obtenus**

Les valeurs de référence peuvent être analysées statistiquement de plusieurs façons en utilisant des méthodes statistiques standards, mais comme toujours il est nécessaire de les utiliser correctement (10).

#### **III.5.5.1. Prétraitement des valeurs de référence**

Le prétraitement des VR c'est l'étape préliminaire avant l'estimation des limites de référence, la plupart des techniques appliquées ici sont des procédures statistiques classiques (10).

**A-Division** du l'ensemble des individus en sous-ensembles homogènes en fonction du sexe, de l'âge et d'autres caractéristiques : elle peut réduire la variation entre les sous-ensembles et entraîner des intervalles de référence plus étroits (1, 10).

**B-Inspection** de la distribution de référence : elle s'effectue à partir de la représentation graphique des données et l'analyse statistique des valeurs obtenues. Cela permet la mise en évidence des valeurs aberrantes, aussi appelées «outliers » (10, 87, 88).

**C-Mise en évidence et élimination** des valeurs aberrantes : les valeurs aberrantes correspondent à une inclusion des sujets non sains ou non représentatifs ou alors à des valeurs affectées par une erreur pré-analytique, analytique ou post-analytique(7)(1, 10).

Ils peuvent être déterminés par différents tests (1, 4, 10). Les plus fréquents sont :

- Test de Dixon (Dixon et Grubbs) : a été employé comme moyen de vérification des valeurs aberrantes, il ne peut être appliqué qu'on suspecte qu'une seule valeur aberrante, il est utilisable quelle que soit la distribution (10, 12)(7, 87).
- Test de Tukey (L'algorithme de Horn) : c'est un test de détection des outliers, il peut être utilisé quand on est en face à plusieurs valeurs aberrantes. Il est applicable si la distribution est gaussienne avec ou sans transformation (89, 90).

## **Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte**

---

**D-**Etude de la distribution normale d'une série des valeurs obtenues par test d'Anderson Darling : on utilise le test de normalité d'Anderson Darling pour vérifier la distribution s'il est normal ou pas en calculant la valeur P (si la distribution des valeurs n'est pas normale, on la transforme par la transformation Box-Cox) (46).

### **III.5.5.2. Méthodes statistiques d'analyse**

Les valeurs de référence peuvent être analysées statistiquement de plusieurs façons en utilisant des méthodes statistiques pour la détermination de l'IR.

Ces méthodes sont classées en fonction du type et volume de distribution des VR obtenue, il existe trois types des méthodes décrites dans les documents officiels de l'IFCC/CLSI :

- La méthode robuste : Nouvelle méthode recommandée par CLSI, elle peut être utilisée lorsque la distribution n'est pas gaussienne, elle estime la médiane et la dispersion de la distribution ;
- La méthode non paramétrique : Elle est applicable lorsque la distribution ne suit aucune loi mathématique. C'est une méthode simple dont le nombre recommandé par l'IFCC est  $\geq 120$ . Elle consiste à classer les valeurs obtenues par ordre croissant et à éliminer 2,5% des valeurs basses et 2,5% des valeurs hautes. Les valeurs restantes constituent l'IR qui contient 95% des valeurs encadré par la plus petite et la plus grande valeur de référence résiduelle ;
- La méthode paramétrique ou gaussienne : Est applicable aux populations dont la distribution suit la loi normale (gaussienne). Elle est caractérisée par sa forme en cloche et par sa capacité d'être déterminée entièrement à partir de deux paramètres ; la moyenne et l'écart-type **(1, 4) (12)**.

Les trois parties essentielles de la méthode paramétrique sont les suivants :

1. Les tests de la distribution gaussienne : ce sont des tests statistiques de l'efficacité de la distribution de référence (la distribution gaussienne) ;
2. Transformations : c'est une fonction mathématique qui est appliquée à toutes le VR pour obtenir une nouvelle distribution plus proche de forme gaussienne que l'original ;
3. L'estimation des fractiles (limites de référence) et des leurs intervalles de confiance :est simple lorsque la distribution est gaussienne à l'origine ou par transformation **(10)**.

## **Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte**

---

### **III.5.6. Transférabilité**

Le transfert d'IR est utilisé depuis des décennies dans nombreux laboratoires lorsqu'un nouvel instrument ou une nouvelle technique est introduite, il est accepté par l'IFCC-CLSI **(1)**.

Les recommandations IFCC/CLSI proposent plusieurs solutions en fonction de cas de figure :

- **Premier cas : la comparaison des systèmes analytiques**

Le transfert d'IR se base sur une comparaison classique des techniques de mesure, cela ne s'effectue que lorsque la démographie de la population du laboratoire « receveur » est identique à celle du laboratoire « donneur » **(1)**.

La comparaison des systèmes analytiques suit un protocole reconnu (SFBC accréditation, Valtec, EP9) en calculant l'équation de la droite de régression et le coefficient de corrélation.

Dans cet esprit, s'il y'a :

-Pas de différence systématique entre les deux méthodes : L'intervalle de référence de la méthode antérieure sera utilisé pour la nouvelle méthode ;

-Une différence systématique caractérisée entre les deux méthodes : Les limites de référence pour la nouvelle méthode seront recalculées en utilisant l'équation de la droite de régression (pente, ordonnée à l'origine, incertitude) et le coefficient de corrélation **(1, 12)**.

- **Deuxième cas : la comparaison des populations**

- ❖ Méthode subjective :

Elle consiste à vérifier la concordance entre les éléments essentiels de l'étude originelle et les conditions de travail et la population du laboratoire **(1, 12)**.

Les principaux éléments à prendre en compte sont :

-Les critères géographiques et démographiques ;

-Les procédures pré-analytiques et les performances analytiques ;

-La description de la population de référence et du protocole utilisé ;

-La méthode statistique de détermination de l'intervalle de référence **(1, 12)**.

La transférabilité de l'IR de l'étude originelle peut se faire sans vérification **(1, 12)**.

- ❖ Vérification de l'intervalle de référence à partir d'un échantillon de sujets apparemment sains :

Dans le cas où la méthode subjective n'est pas applicable, le laboratoire procède à la vérification d'IR en étudiant leurs transférabilité **(1, 12)**.

Le test utilisé pour étudier la transférabilité est :

## Etablissement des valeurs de référence chez l'adulte

- **Test binomial** : il est recommandé par la CLSI pour comparer les différents IR observés. Il teste la transférabilité ou la validation des IR (1).

**La valeur P** : C'est un outil permet d'interpréter la sortie d'un test statistique en calculant la probabilité que la différence observée soit due uniquement au hasard (1, 4).

Pour un seuil de significativité statistique ( $\alpha = 5\%$ ) :

- Si  $P < \alpha$  : La différence statistique est significative (il est peu probable que la différence observée soit due au hasard). Donc, la transférabilité est rejetée ;
- Si  $P > \alpha$  : La différence statistique est non significative (la probabilité que la différence observée soit due au hasard est grande). Donc, la transférabilité est acceptée (4).

Chaque laboratoire doit valider ses IR en suivant protocole bien déterminé (1).

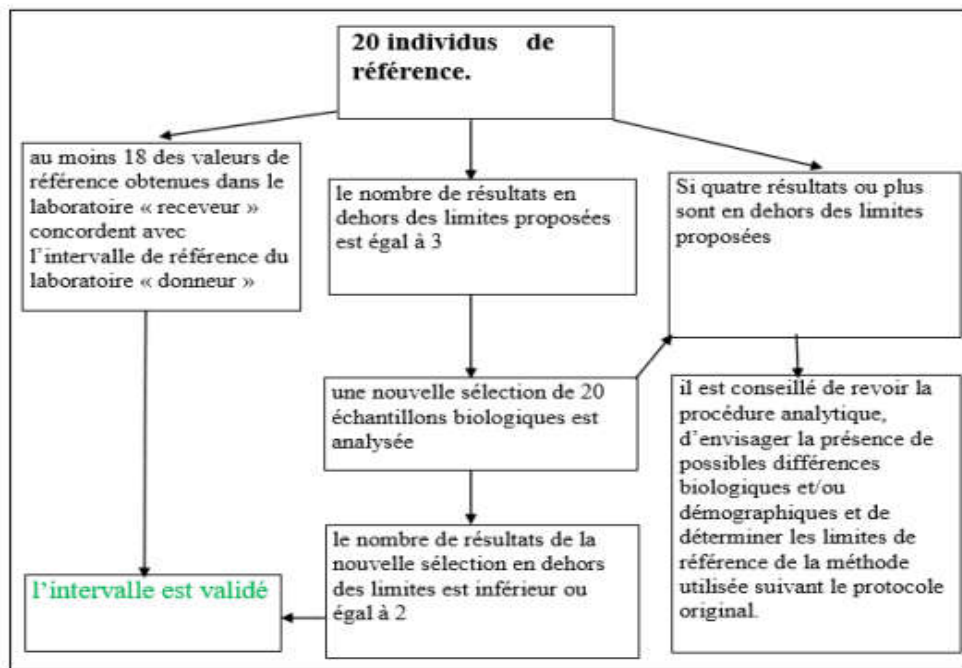


Figure 8: Action de validation des intervalles de référence prés existés(1).

### III.5.7. Traçabilité

La traçabilité de toutes les opérations réalisées s'effectue en documentant et archivant toutes les éléments du processus de détermination des intervalles de référence :

- Conditions pré-analytiques ;
- Méthode analytique ;
- Sélection d'échantillon de référence ;
- Méthode statistique (1, 12).

# Notre étude



## **Objectifs de l'étude**

---

### **I. Objectifs de l'étude**

#### **I.1. Objectif primaire**

Détermination des valeurs de référence du bilan phosphocalcique chez l'adulte sain et l'étude de la transférabilité des intervalles de référence du fournisseur au niveau du CHU de Tlemcen TIDJANI DAMERDJI.

#### **I.2. Objectif secondaire**

Evaluation des variations des paramètres biochimiques en fonction de l'âge.



## **II. Matériels et méthodes**

# Matériels et méthodes

---

## II. Matériels et méthodes

### II.1. Cadre de l'étude

Notre étude s'est déroulée au niveau du service de biochimie du laboratoire central de centre hospitalo-universitaire CHU Tlemcen **TIDJANI DAMERDJI**, qui nous a servi de cadre d'étude. Il offre un milieu adéquat pour nos travaux, où se trouve plusieurs services cliniques et médicaux techniques parmi lesquels, le laboratoire de biochimie où l'environnement analytique servie un cadre de travail pour nos travaux.

#### Service de biochimie

Service de biochimie fait partie du laboratoire central de centre hospitalo-universitaire de Tlemcen, il est constitué de 04 salles :

- ✓ Une salle pour la réception des tubes et le prétraitement des échantillons.
- ✓ Deux salles pour les automates : où ils ont effectué les analyses des paramètres biochimiques courants, dans lesquelles on trouve l'automate Siemens ADVIA1800<sup>®</sup>, Siemens Dimension RXL<sup>®</sup>, et Siemens Immulite 2000XPI.
- ✓ Une salle d'électrophorèse.

### II.2. Type et période d'étude

Il s'agit d'une étude analytique descriptive qui s'est déroulée sur une période allant du 7 octobre 2019 au 12 mars 2020.

### II.3. Population d'étude

Notre étude a été réalisée sur un groupe de 48 sujets adultes sains de 20 ans à 54 ans provenant de la région de Tlemcen et ses environs. Ces personnes sont des étudiants, des personnels de santé de l'hôpital, des visiteurs et des accompagnants des malades hospitalisés.

#### II.3.1. Echantillonnage

Nous avons effectué un échantillonnage direct simple basé sur un questionnaire (Annexe II) qui permet d'exclure les sujets qui ne sont pas conformes.

## **Matériels et méthodes**

---

La sélection consiste à réunir sur la base des critères d'exclusion et d'inclusion un échantillon de référence d'environ 10 à 20 individus par classe d'âge pour former un sous-ensemble homogène. Elle sera mise en place avant le prélèvement sanguin.

### **II.3.2. Critères d'inclusion**

Ont été inclus dans notre étude les sujets répondant aux critères suivants :

- Être de nationalité algérienne ;
- Résident dans la région de Tlemcen ;
- Être âgé de 20ans à 54ans ;
- Présentant des signes physiques et biologiques de bonne santé.

Ce sont les individus de référence.

### **II.3.3. Critères d'exclusion**

Ont été exclus de notre étude les sujets :

- Présentant une pathologie aiguë ou chronique connue (auto-immune ou auto-inflammatoire concomitante) ;
- Souffrant d'une infection aiguë ou chronique, malignité, maladies systémiques telles que le diabète sucré, l'insuffisance cardiaque, maladie rénale, parathyroïdectomie ou maladie osseuse ;
- Ayant pris un traitement au préalable (dans les 10 jours avant le prélèvement) ;
- Dans un état physique particulier : sportifs après un exercice physique intense, femmes enceintes, femmes en postpartum (moins de 6mois) ou changement de mode de vie ;
- Découvrant une fièvre ou tout autre symptôme le jour du prélèvement ;
- L'alcoolisme, le tabagisme ou la drogue.

C'est ainsi que 48 personnes ont pu être retenues.

## **II.4. Matériels expérimentaux**

### **II.4.1. Matériels de prélèvement**

- Des tubes secs et héparinés ;
- Des aiguilles ;
- Des seringues de 10ml ;

## **Matériels et méthodes**

---

- Un garrot en caoutchouc ;
- L'alcool iodé et du coton pour la désinfection.

### **II.4.2. Matériels d'analyse**

L'analyse des spécimens biologiques a requis :

- La centrifugeuse de marque HUMAN (CHU MAX) ;
- Les micropipettes de 200µl et de 500 µl ;
- Les portoirs ;
- Les godets ;
- Les Eppendorfs ;
- Les trousse des réactifs chimiques conservées dans un réfrigérateur entre 2 et 8°C ;
- Réfrigérateur de la marque ENIEM ;
- Congélateur pour la conservation ;
- Les automates de marque Siemens ADVIA1800<sup>®</sup> , Siemens Dimension Rxl <sup>®</sup> et Immulite 2000 XPI.

### **II.4.3. Matériels biologiques**

Sérum et plasma récupérés après centrifugation du sang total veineux sur un tube sec et ou hépariné.

## **II.5. Méthodes d'études**

### **II.5.1. Etape pré-analytique**

La phase pré-analytique couvre l'ensemble des étapes de la préparation de l'individu au prélèvement d'un échantillon jusqu'à l'introduction de ce dernier dans le processus analytique.

#### **II.5.1.1. Fiche de renseignement (questionnaire)**

C'est un formulaire contenant des données relatives à l'individu de référence, présenté sous forme d'un questionnaire (annexe II) qui doit être remplie soigneusement avant le prélèvement sanguin.

## **Matériels et méthodes**

---

Le questionnaire a été construit sur la base des critères d'inclusion et d'exclusion d'une étude similaire faite en Turquie. Il a été proposé et validé par l'équipe de pharmacie clinique.

Une version pilote du questionnaire a été testée sur une petite population (n=10, non inclus dans l'étude) afin de vérifier la compréhension des questions, de juger du temps nécessaire pour y répondre, et d'apporter les modifications nécessaires.

Nous avons interrogé tous les individus en face-à-face en posant les questions en arabe une à une. Le questionnaire a été rédigé en français.

Les questions figurant dans notre questionnaire se rapportent à :

- Date et l'heure du prélèvement ;
- Critères d'inclusion et d'exclusion ;
- Identification de participant : nom, prénom, âge, résidence ;
- Données anthropométriques : taille, poids ;
- Mode de vie : habitudes alimentaires, activité physique ;
- Antécédents pathologiques familiaux ;
- Consentement éclairé et la signature.

### **II.5.1.2. L'ordonnance**

C'est une fiche sur laquelle nous avons prescrit toutes les analyses des paramètres à étudier (parathormone, calcium, phosphore, magnésium et albumine) en mentionnant le nom, le prénom, l'âge du volontaire et la date du prélèvement, afin de faciliter le travail dans le laboratoire (Annexe III).

### **II.5.1.3. Préparation des individus de référence pour le prélèvement**

Afin de faciliter la contention et limiter les variations liées à la prise alimentaire et au stress, les prélèvements ont été réalisés le matin, sur des sujets à jeun depuis 10 heures au moins et ayant dormi 7 à 8 heures.

-Prélever entre 7h et 10h après être assuré qu'ils n'ont fait pas d'exercices physiques intenses, ni fumé 2h avant le prélèvement.

-Mettre en repos le sujet au moins 15 minutes dans la salle du prélèvement.

-Eviter tout type de stress au moment du prélèvement.

## **Matériels et méthodes**

---

### **II.5.1.4. Déroulement du prélèvement**

- Les prélèvements sont déroulés au niveau du CHU de TLEMCEM entre 8 heures et 10 heures.
- Après la préparation du matériel du prélèvement, la vérification de l'identité du patient doit être réalisée par le préleveur en questionnant le sujet.
- Après un repos de 15 minutes du sujet dans la salle du prélèvement, nous avons effectué le prélèvement au niveau du pli du coude à l'aide d'un garrot peu serré en position assise.
- Nous avons prélevé sur deux tubes sec et hépariné (après avoir enlevé le garrot), ce dernier a été mélangé soigneusement après son remplissage.
- L'étiquetage des tubes doit être fait systématiquement après le prélèvement.
- Ensuite, Nous avons rempli une ordonnance propre à chaque participant en mentionnant l'heure et la date de prélèvement sur la fiche de renseignement.

### **II.5.1.5. Transport**

Le prélèvement était effectué au niveau de salle du prélèvement du laboratoire centrale qui est très proche du laboratoire de biochimie. La durée du transport ne dépasse pas 10 minutes.

### **II.5.1.6. Réception**

Une fois les prélèvements arrivent au laboratoire, un numéro d'ordre doit être mentionné sur l'étiquette du tube et sur l'ordonnance qui est propre à chaque individu de référence.

### **II.5.1.7. Préparation des spécimens pour l'analyse**

#### **➤ Centrifugation**

Nous avons centrifugé les tubes pendant 5 à 10 minutes à 4000 tours/minute à température ambiante :

-Pour les tubes secs : sont centrifugés aussi rapidement que possible en respectant la durée d'attente nécessaire avant la centrifugation qui ne doit être ni trop courte (une post coagulation peut se produire dans le sérum) ni trop longue (peut provoquer des modifications du sérum), la centrifugation est réalisée après avoir enlevé le caillot.

-Pour les tubes héparinés : sont centrifugés directement.

-Les spécimens hémolysés ont été systématiquement éliminés.

#### **➤ Conservation**

## Matériels et méthodes

---

-Les échantillons qui sont analysés le jour du prélèvement sont gardés à une température ambiante et traités dans les 2 heures qui suivent le prélèvement.

-Les échantillons qui ne sont pas traités le jour même, sont récupérés dans des godets.

-Le sérum recueilli a été divisé sur deux Eppendorfs hermétiquement fermés et bien étiquetés (sérum ou plasma, nom et prénom d'individu de référence) et conservés au congélateur ; l'un est conservé à -80 °C et l'autre à +4°C jusqu' au le jour de la réalisation des analyses.

### ➤ Programmation

La programmation était faite sur les logiciels de l'automate :

Paramètre	Programmation
PTH	Immulite 2000
Phosphore et albumine	Siemens ADVIA1800®
Calcium et magnésium	RXL

### ➤ Exigences particulières

Pour les échantillons qui sont congelés : une durée de décongélation de 30 minutes à température ambiante doit être respectée.

## II.5.2. Etape analytique

### II.5.2.1. Description du Siemens ADVIA1800®

#### Caractéristiques

- ✓ Le système de chimie ADVIA® 1800 dispose d'un large menu de tests (les tests de chimie de routine, les médicaments, les toxiques ainsi que les protéines spécifiques).
- ✓ Cadence : pouvant atteindre 1800 tests/heure.
- ✓ Capacité de traitement de 200 bilans métaboliques de base par heure.
- ✓ Un matériel robuste, un logiciel intuitif, une validation automatique des calibrations et une traçabilité des résultats.

## Matériels et méthodes

---

- ✓ Grande stabilité des réactifs à bord, fréquence des calibrations réduites, réduction des interférences et linéarités étendues des tests.
- ✓ Le raccordement direct à l'eau.
- ✓ Diagnostic à distance et option ILQ (Contrôle de qualité inter-laboratoires).
- ✓ Une grande capacité de stockage de réactifs à bord et des réactifs concentrés.
- ✓ Un stockage réfrigéré des réactifs et des contrôles de qualité à bord pour une meilleure stabilité et une productivité améliorée.
- ✓ Une connexion directe, sans interface robotique supplémentaire, à un système d'automatisation.





## Matériels et méthodes

---

### II.5.2.2. Description du Siemens Dimension Rxl ®

#### Caractéristiques

- ✓ Capacité à exécuter jusqu'à 91 méthodes simultanément.
- ✓ Analyseur multiparamétrique.
- ✓ Équipé d'un module.
- ✓ Cadence théorique 83 tests par heures.
- ✓ 500 tests par heures (en phase homogène).
- ✓ Traitement des échantillons optimisé.
- ✓ Les panels les plus couramment commandés à partir d'un seul échantillon.



### II.5.2.3. Description du Immulite 2000 XPI Système d'immuno-analyse

- ✓ Le système IMMULITE 2000 XPi est un module d'immuno-analyse à accès en continu et aléatoire.

## Matériels et méthodes

---

### Caractéristiques

- ✓ Fiabilité et simplicité d'utilisation.
- ✓ Stabilité à bord des réactifs de 90 jours pour réduire les déchets.
- ✓ Cadence maximum de 200 tests par heure.
- ✓ Chargement des échantillons sans mettre le système en pause pour améliorer le temps de rendu des résultats.
- ✓ Fonctions de réanalyse, dilution et tests réflexes conçues pour réduire le temps d'intervention de l'opérateur.
- ✓ Traiter des volumes moyens à élevés d'immuno-analyse grâce à l'intégration des tests de spécialité et d'allergologie sur une seule plateforme.



## Matériels et méthodes

### II.5.2.4. Contrôle qualité

La validation d'un automate procède à une phase initiale avant son utilisation en routine, c'est une phase de vérification continue et de confirmation des performances afin de contrôler la qualité du processus analytique et donc les résultats lors du fonctionnement quotidien. Les bonnes pratiques du laboratoire nécessitent des contrôles normaux et pathologiques pour chaque test au moins quotidiennement pour surveiller le processus analytique.

### II.5.2.5. Les méthodes d'analyse

**Tableau X :** Méthode analytique de dosage des différents paramètres.

Paramètre biochimique	Type du prélèvement	Méthodologie	Type de réaction	Appareil
Parathormone	Sérum	Chimiluminescenceimmuno-essai	CLEA	Immulite 2000 XPI
Calcium	Sérum	Colorimétrie (ArsenazoIII)	Point final.	Siemens Dimension Rxl ®
Magnésium	Sérum	Colorimétrie	Point final	Siemens Dimension Rxl ®
Phosphore	Sérum	Photométrie UV (Complexe phosphomolybdate)	UV	Siemens ADVIA1800 ®
Albumine	Sérum	BCG	Point final	Siemens ADVIA1800 ®

✚ Nous avons effectué deux dosages pour chaque paramètre : parathormone, calcium, phosphore, magnésium, et l'albumine (46).

## Matériels et méthodes

---

### II.5.3. Etape post-analytique :

#### II.5.3.1. Résultats

Les résultats de chaque individu sont obtenus sous forme d'un compte rendu d'analyses médicales qui est validé par un assistant spécialiste avant d'être utilisé pour les statistiques.

#### II.5.3.2. Analyse et interprétation des résultats

Avant de commencer l'analyse, nous avons calculé la moyenne des résultats des deux dosages.

Les résultats sont classés sur un fichier Excel avec nom, prénom, l'âge et sexe propre à chaque individu de référence.

##### II.5.3.2.1. Méthodes statistiques

- **Méthode paramétrique** : Pour un nombre de moins de 120, elle exige que la distribution soit gaussienne (1).
- **Test de Tukey** : c'est un test de détection des valeurs aberrantes, il peut être utilisé quand on est face à plusieurs valeurs aberrantes (1).
- **Tests Dixon** : il a été employé comme moyen de vérification des valeurs aberrantes, il ne peut être appliqué qu'on suspecte qu'une seule valeur aberrante (1).
- **Test d'Anderson Darling** : c'est un test de normalité des données statistiques. Il est utilisé pour vérifier la distribution si il est normal ou pas en calculant la valeur P d'Anderson Darling (46).
- **Test binomial** : il est recommandé par la CLSI pour la comparaison des différents IR observés. Il teste aussi la transférabilité ou la validation des IR (1).

**La valeur P** : C'est un outil permettant d'interpréter la sortie d'un test statistique en calculant la probabilité que la différence observée soit due uniquement au hasard (1, 4).

Pour un seuil de significativité statistique  $\alpha = 0.05$  :

- Si  $P < \alpha$  : La différence statistique est significative (il est peu probable que la différence observée soit due au hasard) ;
- Si  $P > \alpha$  : La différence statistique est non significative (la probabilité que la différence observée soit due au hasard est grande) (4).

## Matériels et méthodes

**Tableau XI :** Procédures recommandées en fonction de la taille d'échantillon et de la distribution (87, 88).

Taille de l'échantillon	Distribution (d'origine ou transformée)	Méthode statistique
>120	Non applicable	Non-paramétrique avec un IC de 90%
40 < x < 120	Gaussienne	Paramétrique ou robuste avec un IC de 90%
	Non-gaussienne	Non paramétrique ou robuste* avec un IC de 90%
20 < x < 40	Gaussienne	Paramétrique avec un IC de 90%
	Non-gaussienne	Robuste avec un IC de 90%
10 < x < 20	Non applicable	Ne pas calculer d'intervalles de référence
< 10	Non applicable	

### II.5.3.2.2. Matériels statistiques

Les données ont été saisies et analysées par logiciel SPSS.

La représentation des graphiques a été effectuée par Reference Value Advisor qui est inséré sur Microsoft Excel 2016.

Description du logiciel statistique utilisé :

#### Reference Value Advisor

C'est un logiciel à utiliser avec Microsoft Excel® et qui permet de calculer les limites de référence en utilisant différentes méthodes : non paramétrique, paramétrique et robuste, avec ou sans transformation BoxCox des valeurs selon les recommandations de l'IFCC-CLSI.

Ce logiciel est choisi en raison de sa grande disponibilité. Il est donc très utile lorsque l'on est confronté à des échantillons de référence de taille restreinte car il permet d'utiliser des méthodes alternatives à la méthode non paramétrique recommandée pour les échantillons de plus de 120 individus de référence (89, 90).

Le logiciel fournit dans :

- Un premier temps des données statistiques de base telles que la taille d'échantillon, la moyenne, la médiane, la déviation standard (écart type), le minimum et le maximum.

## Matériels et méthodes

---

- Un second temps, quelle que soit la taille d'échantillon de référence, il faut inspecter les données, réaliser un histogramme pour visualiser la distribution de référence, repérer les éventuelles erreurs et identifier de possibles « outliers » (89).

Reference Value Advisor utilise les tests de Tukey et Dixon pour détecter les valeurs aberrantes « outliers » (90).

Les outliers théoriquement n'appartiennent pas à la distribution de référence. Ils peuvent être visualisés sur la représentation « Box plot ». En plus de la détection visuelle des outliers, différents tests peuvent être utilisés, les plus fréquents étant ceux de Dixon et Tukey ;

- Le test de Tukey peut être utilisé quand on est face à plusieurs outliers ;
- Test de Dixon ne peut être appliqué que lorsqu'on ne suspecte qu'un seul outliers(89, 90).

L'IFCC et le CLSI recommandent de conserver les outliers dans la mesure du possible plutôt que de les supprimer, bien qu'ils soient connus pour être des valeurs aberrantes.

Pour toute série des données, Reference Value Advisor utilise le test d'Anderson-Darling pour vérifier la normalité de la distribution de référence. Il affiche la distribution des valeurs sur des diagrammes en points et des histogrammes et construit des diagrammes Q-Q plots ce qui permet l'inspection visuelle de la normalité ou non de la distribution. Si la distribution n'est ni gaussienne ni symétrique, la transformation Box-Cox est effectuée. Il fournit aussi des lignes directrices minimales sous forme des commentaires basés sur les recommandations internationales(89, 90).

La transformation Box-Cox est souvent utilisée pour obtenir une distribution de référence normale lorsque les données de base n'ont pas une distribution gaussienne ou symétrique. Son utilisation est recommandée par le CLSI lorsque les échantillons de référence comprennent un nombre limité d'individus (89, 90).

Quelle que soit la série des données, le logiciel calcule des limites de référence avec des intervalles de confiance à 95 %, en utilisant :

- ✓ Une méthode non paramétrique lorsque  $n \geq 120$  ;

## Matériels et méthodes

---

- ✓ Des méthodes paramétriques et robustes à partir des valeurs natives ou transformées par Box-Cox(89, 90).

Pour toute série de données : Reference Value Advisor calcule et rapporte 5 IR fondés sur des hypothèses concernant les données de distribution :

- Les 4 premiers intervalles sont obtenus en utilisant des méthodes standards et robustes à la fois sur les données transformées (Box-Cox) et non transformées.
- Le dernier (cinquième) intervalle est obtenu sans aucune hypothèse sur la distribution des données. Il s'agit donc d'une distribution libre ou non paramétrique équivalente. Cette dernière n'est réalisable que lorsque le nombre d'individus de référence est supérieur à 120 et elle est basée sur le classement des valeurs et le placement des limites de référence aux 2,5ème et 97,5ème percentile (89, 90).

-La méthode paramétrique quant à elle estime le 2,5ème et le 97,5ème percentile avec ou sans transformation des données. En effet, une transformation Box-Cox des données est parfois nécessaire pour obtenir une distribution gaussienne (condition à vérifier pour utiliser la méthode paramétrique) (89, 90).

-La méthode robuste estime la médiane et la dispersion de la distribution. L'emploi de cette méthode nécessite une distribution de référence symétrique avec ou sans transformation Box-Cox des données. Elle a donc été appliquée lorsque la méthode paramétrique n'était pas disponible en raison d'une distribution de référence non gaussienne (89, 90).

Reference Value Advisor fournit des instructions et des commentaires basés sur les recommandations internationales. Il impose un code de couleur qui est utilisé lors de la déclaration des limites de référence :

- Le vert indique que l'on est d'accord avec les recommandations ;
- L'orange indique qu'il faut utiliser avec précautions ou à éviter de les utiliser parce que des valeurs aberrantes possibles sont détectées ;
- Le rouge indique que la distribution n'est pas gaussienne (89, 90).

## **Matériels et méthodes**

---

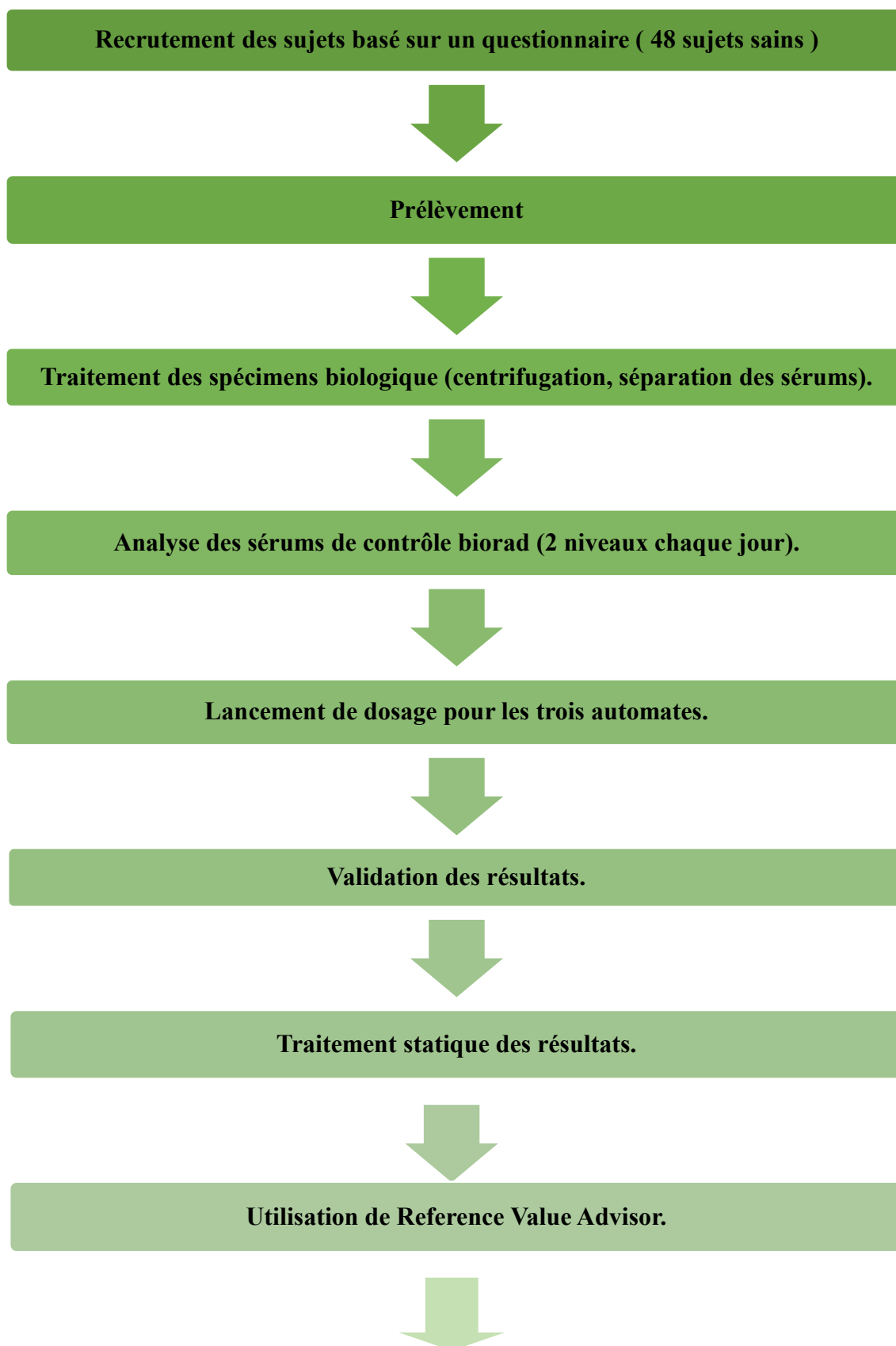
Reference Value Advisor donne ainsi une évaluation rapide et une comparaison des résultats obtenus à partir des différentes méthodes, permettant ainsi de choisir la plus appropriée dans le cas des échantillons de référence de taille restreinte **(89, 90)**.



## Matériels et méthodes

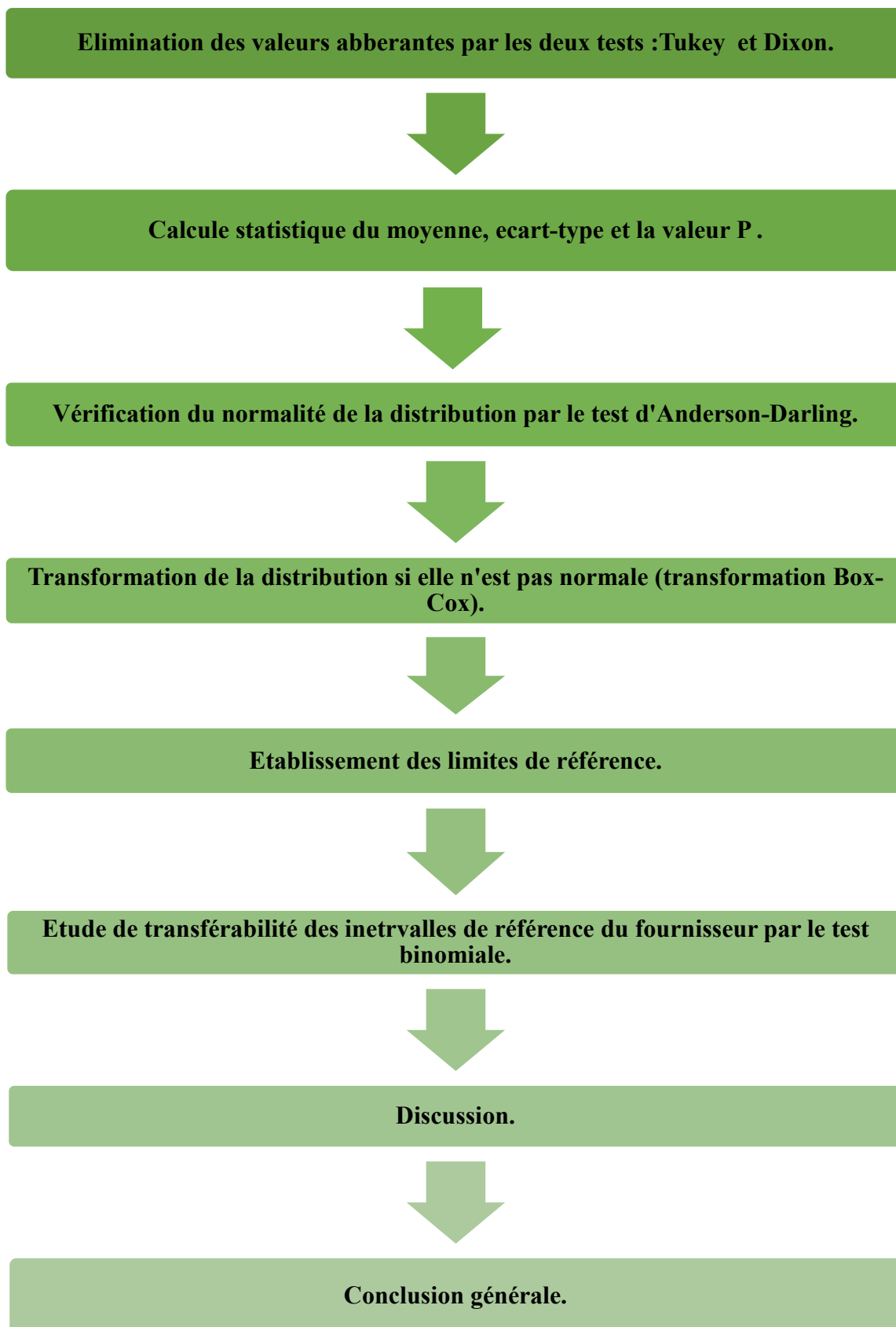
---

### II.6. Protocole



## Matériels et méthodes

---



# **III. RESULTATS**

# Résultats

## III. Résultats

### III.1. Données sociodémographiques

#### a. Le sexe

Notre population enquêtée comporte 48 sujets dont 27 femmes (56%) et 21 hommes (44%).

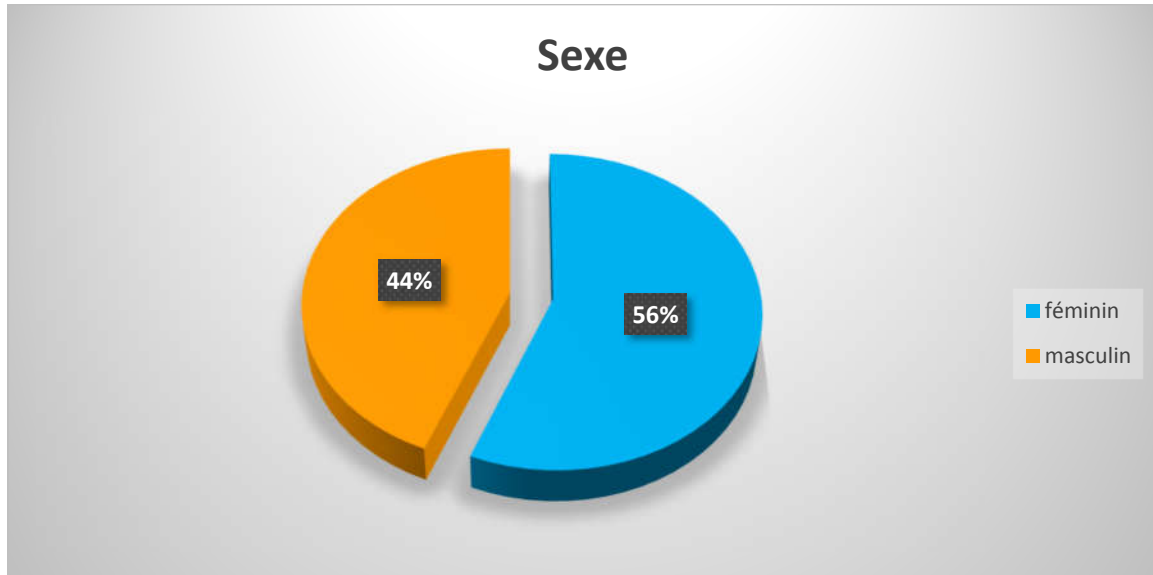


Figure 9 : Répartition de la population selon le sexe.

#### b. L'âge

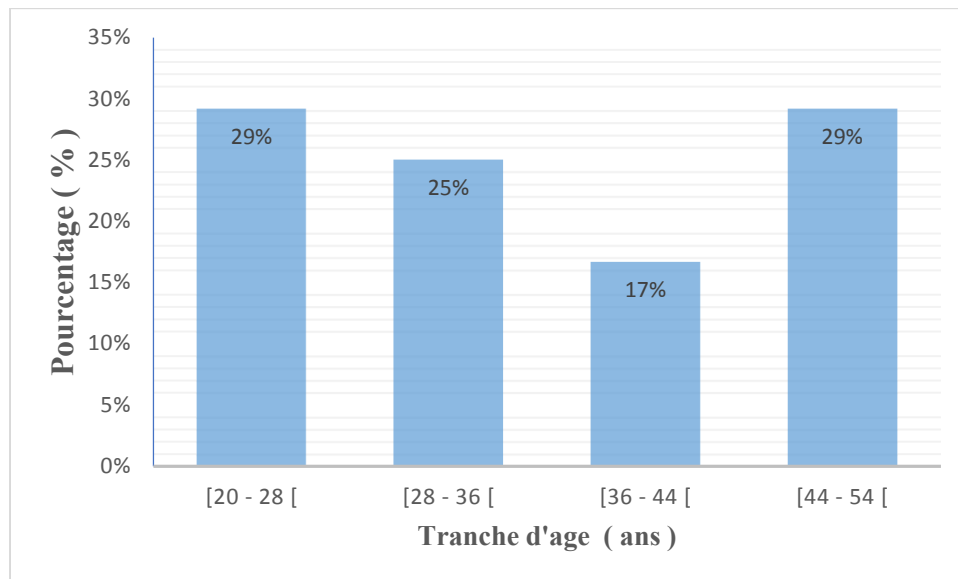
Quatre classes d'âge ont été constituées : 20 – 28 ans, 28 – 36 ans, 36 – 44 ans et 44 – 54 ans.

### 1. Répartition de la population d'étude

Tableau XII : Répartition de notre population selon l'âge.

Tranche d'âge (ans)	Nombre d'effectif	Pourcentage (%)
[20 - 28 [	14	29%
[28 - 36 [	12	25%
[36 - 44 [	8	17%
[44 - 54 [	14	29%
Total	48	100%

## Résultats



**Figure 10 :** Répartition de la population selon l'âge.

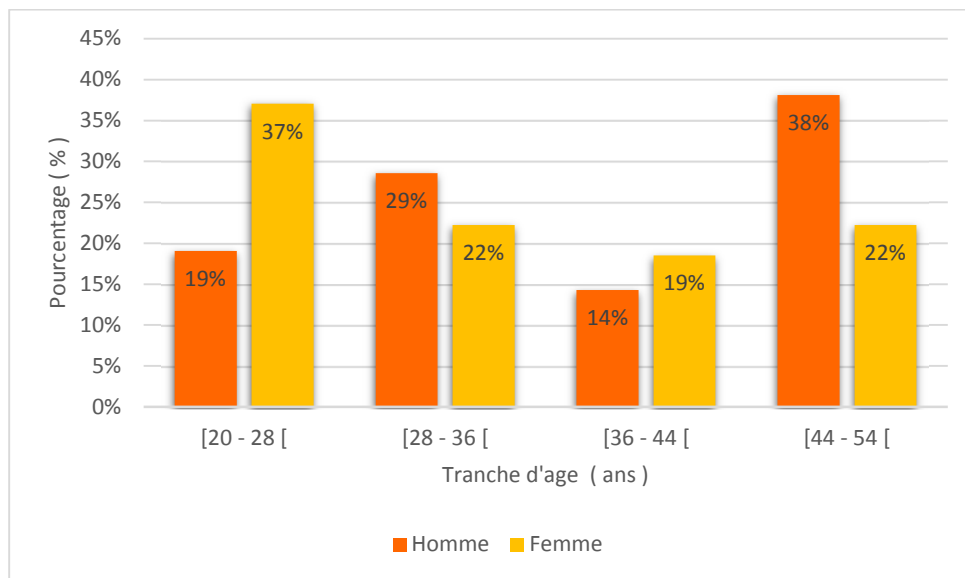
Plus de 83% de notre population ont un âge de 20 – 36 ans et 44 – 54 ans, les sujets ayant 36-44 ans sont les moins nombreux.

### 2. Répartition de la population d'étude en fonction du sexe et selon la classe d'âge

**Tableau XIII:** Répartition de la population d'étude en fonction du sexe et selon la classe d'âge.

<b>Homme</b>		
Tranche d'âge (ans)	Nombre d'effectifs	Pourcentage (%)
[20 - 28 [	4	19%
[28 - 36 [	6	29%
[36 - 44 [	3	14%
[44 - 54 [	8	38%
Total	21	100%
<b>Femme</b>		
Tranche d'âge (ans)	Nombre d'effectifs	Pourcentage (%)
[20 - 28 [	10	37%
[28 - 36 [	6	22%
[36 - 44 [	5	19%
[44 - 54 [	6	22%
Total	27	100%

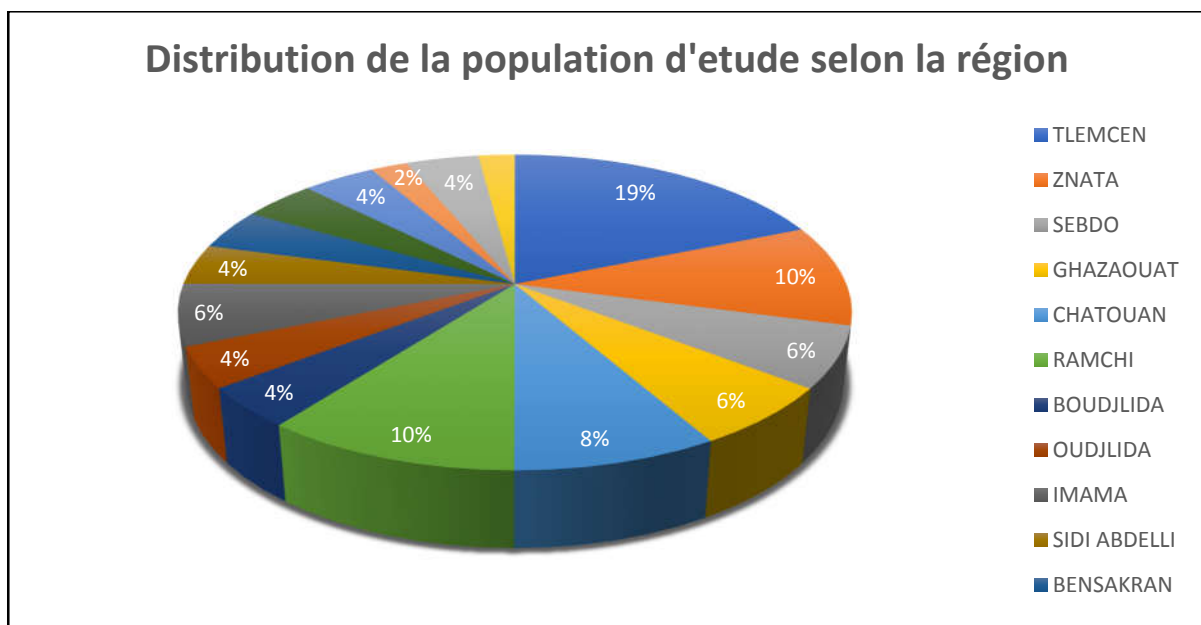
## Résultats



**Figure 11 :** Distribution de la population en fonction du sexe selon la tranche d'âge.

Les femmes ayant une tranche d'âge de 20 – 28 ans sont les plus nombreux par rapport aux autres tranches d'âge, tandis que les hommes qui ont une tranche d'âge de 44 – 54 ans sont plus nombreux par rapport aux autres tranches d'âge.

### c. La région



**Figure 12 :** Répartition de la population selon la région.

- 19 % de notre population sont venus de la région de TLEMECEN.

## Résultats

- 10% de notre population sont venus de la région de RAMCHI, ZNATA.
- 8% de notre population sont venus de la région de CHATOUAN.
- 6% de notre population sont venus de la région de SEBDO et GHAZAOUAT.
- 4% de notre population sont venus de la région de BOUDJLIDA, OUDJLIDA, SIDIABDELLI, BENSAGRAN, MAGHNA et SABRA.
- 2% de notre population sont venus de la région d'AIN FEZZA et HNAYA.

### III.2. Résultats des différents paramètres

#### III.2.1. Parathormone

Représentation des valeurs normales par le logiciel REFERENCE VALUE ADVISOR, calculées par la méthode paramétrique sans transformation Box-Cox (car valeur p d'Anderson-Darling > 0.05).

1. Données statistiques :

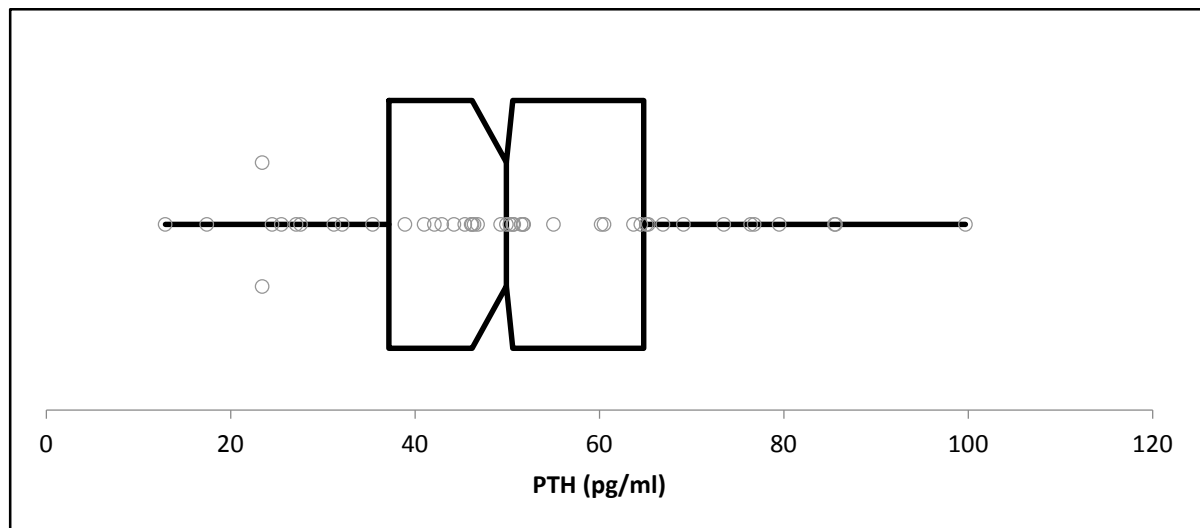
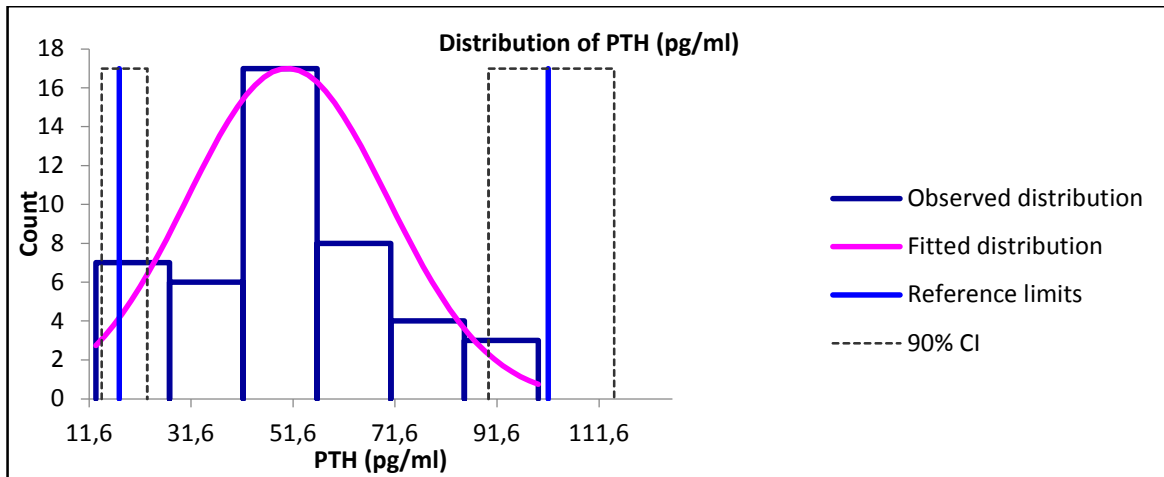


Figure 13 : Répartition des valeurs de parathormone de notre population.

Tableau XIV : Statistiques descriptives de notre population pour la parathormone

Nombre du prélèvement	<b>45</b>
Valeur minimale	<b>12.9</b>
Valeur maximale	<b>99.7</b>
Moyenne	<b>50.52</b>
Médiane	<b>49.90</b>
Ecart type	<b>19.67</b>
Test de la distribution normale d'Anderson-Darling	<b>Normalité acceptée (P=0,555)</b>

# Résultats



**Figure 14 :** Distribution des valeurs de parathormone de notre population.

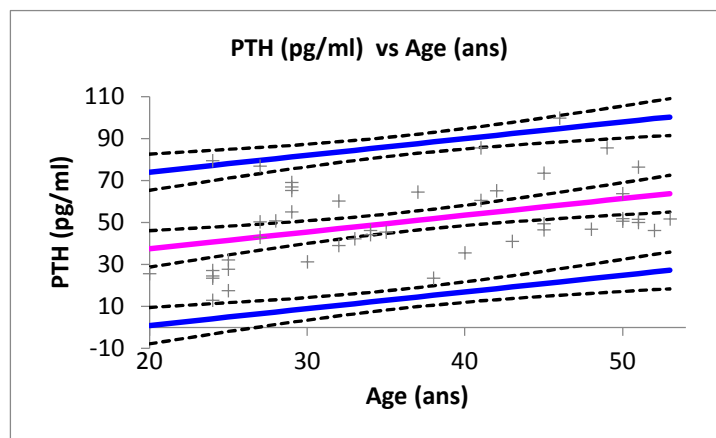
2. Essai d'établissement d'IR de notre Population :

**Tableau XV:** Etablissement d'intervalle de référence de notre Population

	<b>Méthode paramétrique standard (distribution normale).</b>
Limite Inferieure	10,4426
90% CI	2,7837 - 18,4914
Limite Supérieure	90,6062
90% CI	82,1341 - 98,7236

L'intervalle de référence retenu dans notre cas est celui de la méthode paramétrique standard (N=45<120) : 10.44 – 90.61.

3. L'évolution de parathormone en fonction de l'âge :



**Figure 15 :** L'évolution de parathormone en fonction de l'âge.



## Résultats

Augmentation significative de parathormone avec l'âge ( $p=0.005$ ).

#### 4. Transférabilité de l'intervalle du siemens immulite :

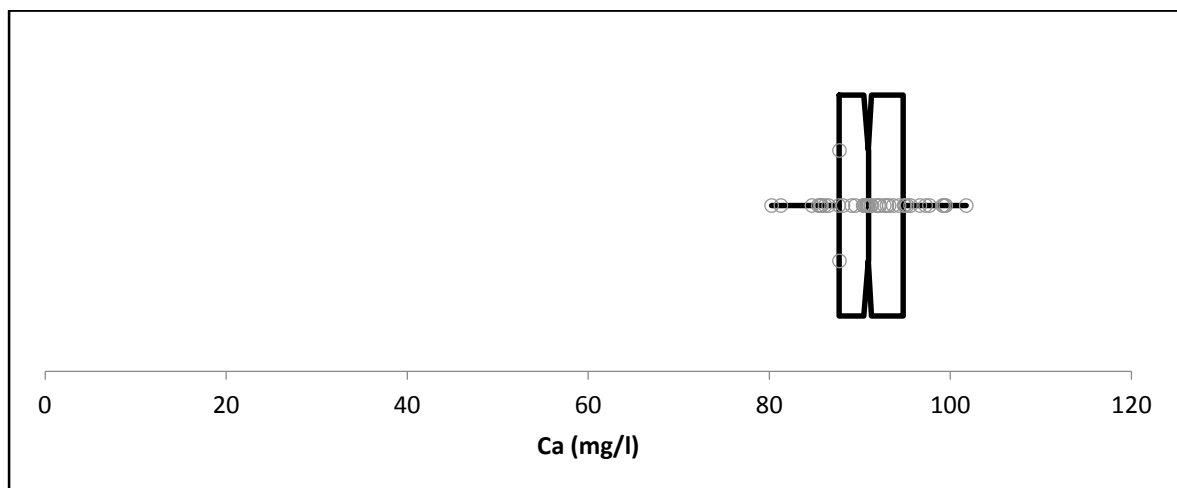
**Tableau XVI:** Transférabilité de l'intervalle du siemens immulite

Intervalle du fournisseur	Test binomiale	% IR	% hors IR	Accepté
(12- 65)	NS $P=0,608$	96	4	OUI

### III.2.2.Calcémie

Représentation des valeurs normales par le logiciel REFERENCE VALUE ADVISOR, calculées par la méthode paramétrique sans transformation Box-Cox (car la valeur d'Anderson-Darling  $>0.05$ ).

#### 1. Données statistiques

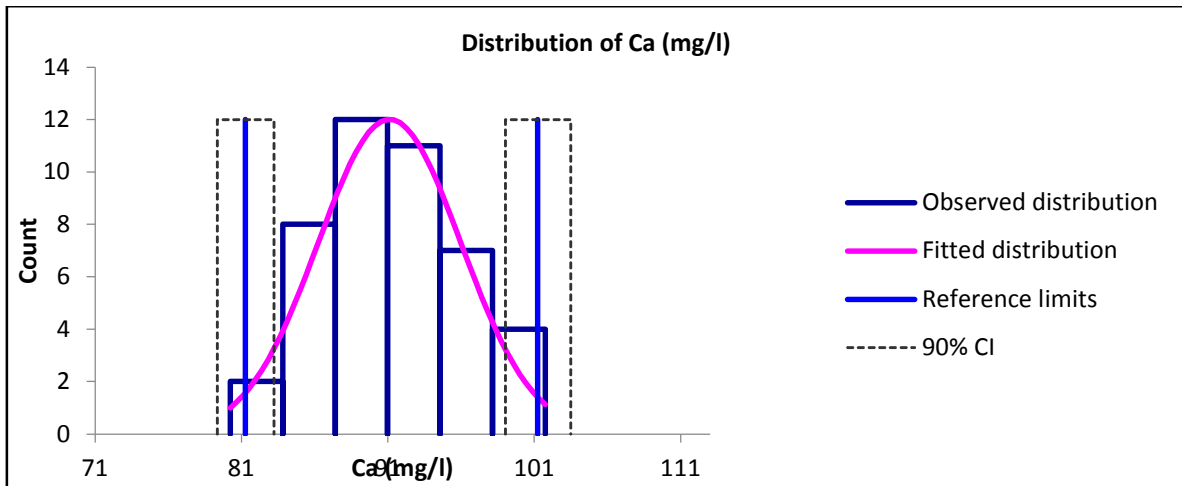


**Figure 16 :** Répartition des valeurs de la calcémie de notre population.

**Tableau XVII:** Statistiques descriptives de notre population pour la calcémie.

Nombre du prélèvement	<b>44</b>
Valeur minimale	<b>80.24</b>
Valeur maximale	<b>101.74</b>
Moyenne	<b>91,1225</b>
Médiane	<b>90,94</b>
Ecart type	<b>4,8461</b>
Test de la distribution normale d'Anderson-Darling	<b>Normalité acceptée (<math>P=0,8070</math>)</b>

# Résultats



**Figure 17 :** Distribution des valeurs de la calcémie de notre population.

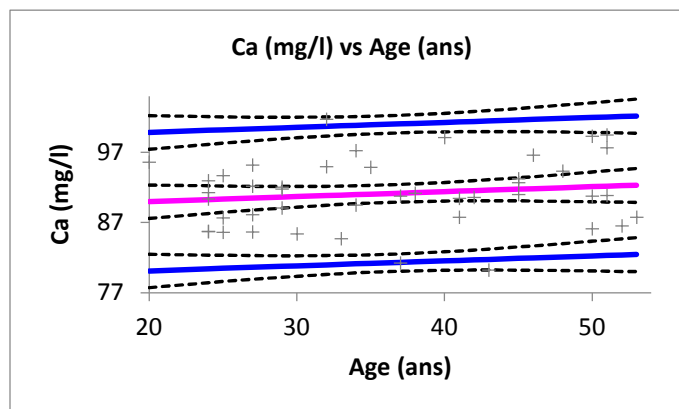
## 2. Essai d'établissement d'IR de notre Population :

**Tableau XVIII:** Etablissement d'intervalle de référence de notre population

	<b>Méthode paramétrique standard (distribution normale).</b>
Limite Inférieure	81,1672
90% CI	79,2452 - 83,1892
Limite Supérieure	101,0778
90% CI	98,9496 - 103,1169

L'intervalle de référence retenu dans notre cas est celui de la méthode paramétrique standard (N= 44 < 120) : 81.17 – 101.08.

## 3. L'évolution de calcémie en fonction de l'âge :



**Figure 18 :** L'évolution de calcémie en fonction de l'âge.

## Résultats

Légère augmentation non significative de calcémie avec l'âge ( $p=0.348$ ).

### 4. Transférabilité de l'intervalle de RXL :

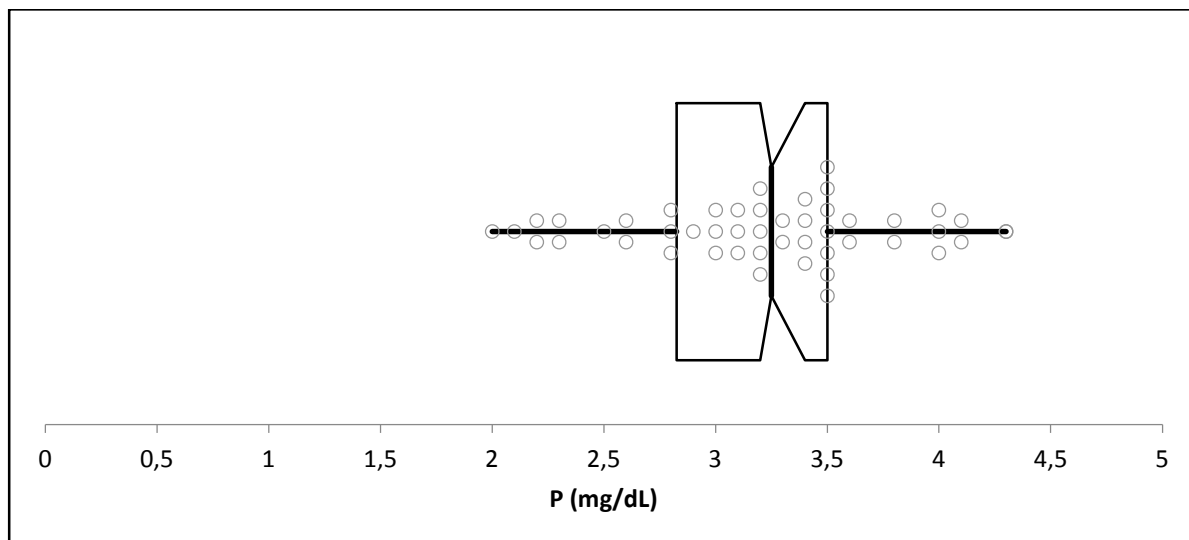
**Tableau XIX:** Transférabilité de l'intervalle de RXL.

Intervalle du fournisseur	Test binomiale	% IR	% hors IR	Accepté
(85-100)	NS $P=0,379$	93	7	OUI

### III.2.3.Phosphorémie

Représentation des valeurs normales par le logiciel REFERENCE VALUE ADVISOR, calculées par la méthode paramétrique sans transformation Box-Cox (car la valeur  $p$  d'Anderson-Darling  $>0.05$ ).

#### 1. Données statistiques :

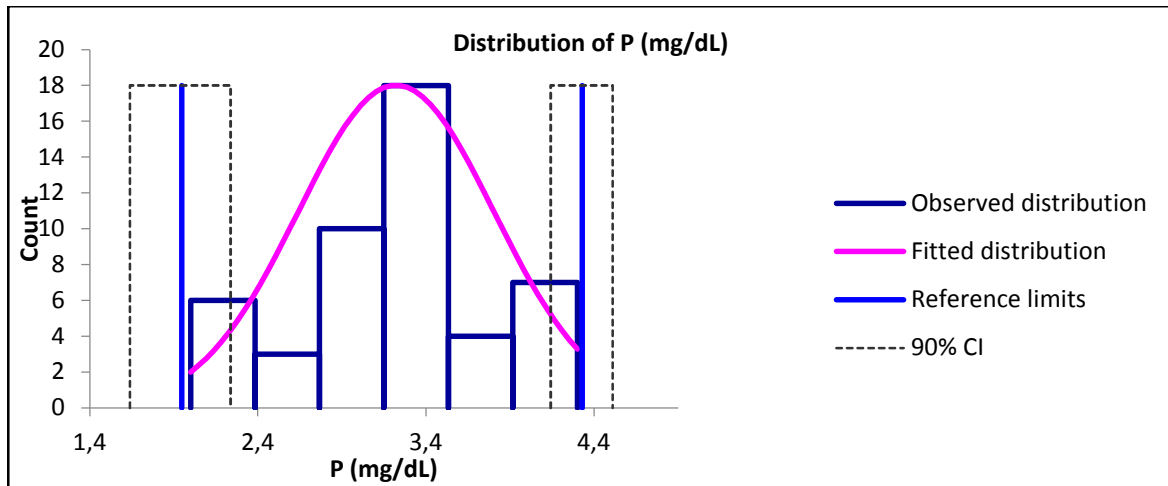


**Figure 19 :** Répartition des valeurs de phosphorémie de notre population.

**Tableau XX:** Statistiques descriptives de notre population pour la phosphorémie.

Nombre du prélèvement	<b>48</b>
Valeur minimale	<b>2</b>
Valeur maximale	<b>4.3</b>
Moyenne	<b>3,2229</b>
Médiane	<b>3,25</b>
Ecart type	<b>0,5832</b>
Test de la distribution normale d'Anderson-Darling.	<b>Normalité acceptée (<math>P=0,24829</math>)</b>

# Résultats



**Figure 20 :** Distribution des valeurs de la phosphorémie de notre population.

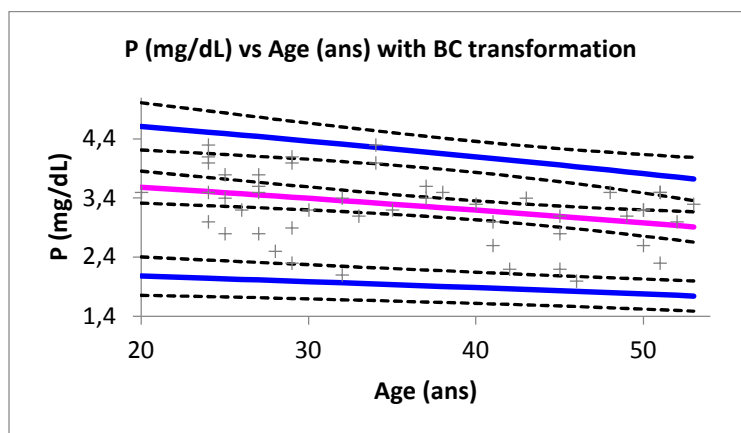
2. Essai d'établissement d'intervalle de référence de notre Population :

**Tableau XXI:** Etablissement d'IR de notre Population

	<b>Méthode paramétrique standard (distribution normale).</b>
Limite Inférieure	2,0375
90% CI	1,8176 - 2,2679
Limite Supérieure	4,4083
90% CI	4,1657 - 4,6406

L'intervalle de référence retenu dans notre cas est celui de la méthode paramétrique standard (N= 48 < 120) : 2,04 - 4,40.

3. L'évolution de phosphorémie en fonction de l'âge :



**Figure 21 :** L'évolution de phosphorémie en fonction de l'âge.

## Résultats

Diminution significative du phosphorémie avec l'âge ( $p=0.017$ ).

### 4. Transférabilité d'intervalle d'ADVIA :

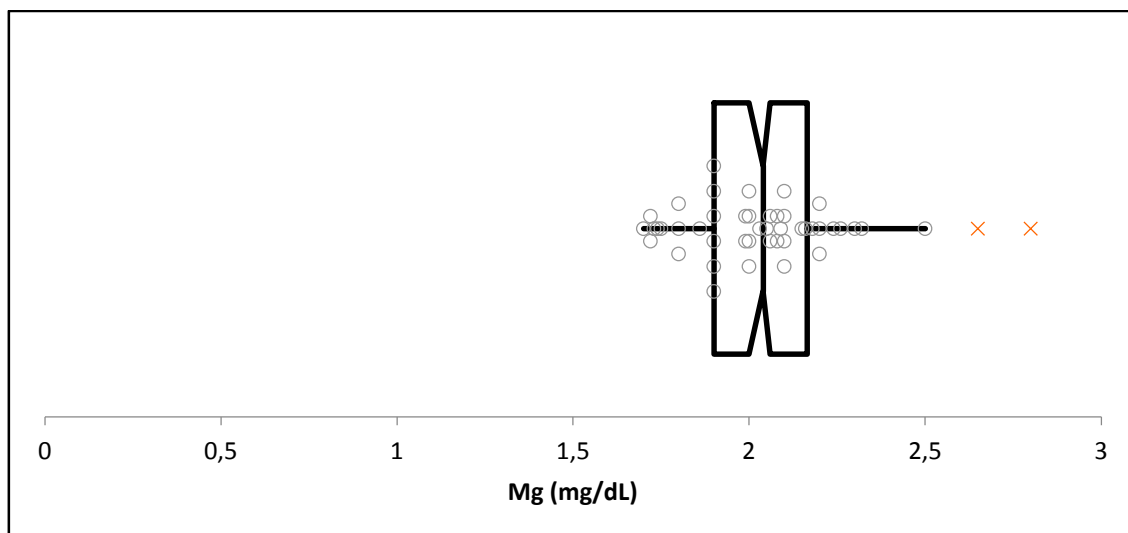
**Tableau XXII:** Transférabilité d'intervalle d'ADVIA.

Intervalle du fournisseur	Test binomiale	% IR	% hors IR	Accepté
(2,5-5,1)	NS P=0,09	85	15	OUI

### III.2.4. Magnésémie

#### 1. Données statistique :

Représentation des valeurs normales par le logiciel REFERENCE VALUE ADVISOR, calculées par la méthode paramétrique sans transformation Box-Cox (car la valeur  $p$  d'Anderson-Darling  $>0.05$ ).

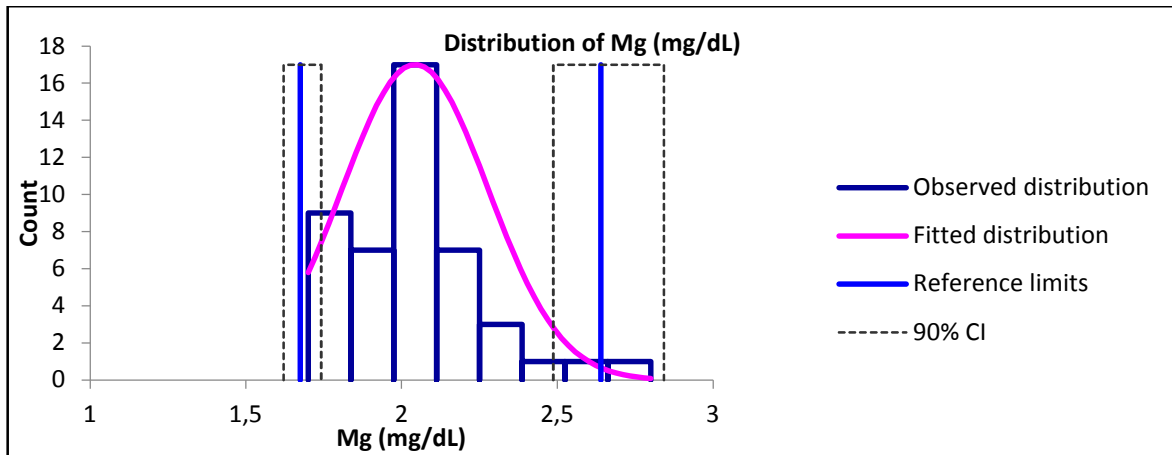


**Figure 22 :** Répartition des valeurs de la magnésémie de notre population.

**Tableau XXIII:** Statistiques descriptives de notre population pour la magnésémie

Nombre du prélèvement	<b>46</b>
Valeur minimale	<b>1.7</b>
Valeur maximale	<b>2.8</b>
Moyenne	<b>2,0436</b>
Médiane	<b>2,04</b>
Ecart type	<b>0,2339</b>
Test de la distribution normale d'Anderson-Darling	<b>Normalité acceptée (P= 0.053)</b>

## Résultats



**Figure 23 :** Distribution des valeurs de la magnésémie de notre population.

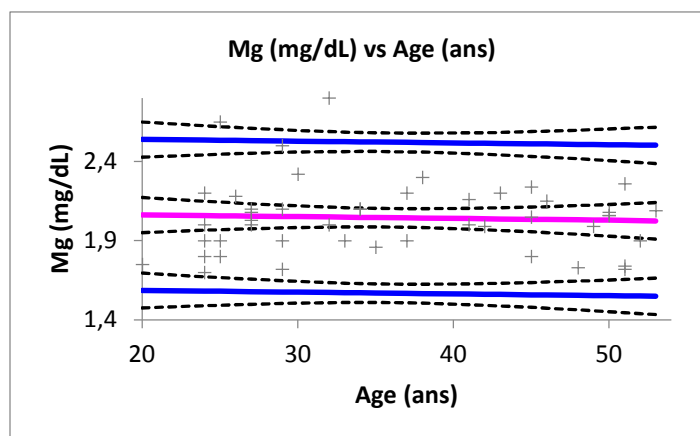
2. Essai d'établissement d'intervalle de référence de notre Population :

**Tableau XXIV:** Etablissement d'IR de notre Population

	<b>Méthode paramétrique standard (distribution normale).</b>
Limite Inférieure	1,5673
90% CI	1,4772- 1,6619
Limite Supérieure	2,5201
90% CI	2,4205 - 2,6155

L'intervalle de référence retenu dans notre cas est celui de la méthode paramétrique standard (N= 47 < 120) : 1.6 – 2.5.

3. L'évolution de magnésémie en fonction de l'âge :



**Figure 24 :** L'évolution de magnésémie en fonction de l'âge.

## Résultats

Aucune modification d'intervalle de magnésémie avec l'âge ( $p=0.747$ ).

### 4. Transférabilité d'intervalle de RXL :

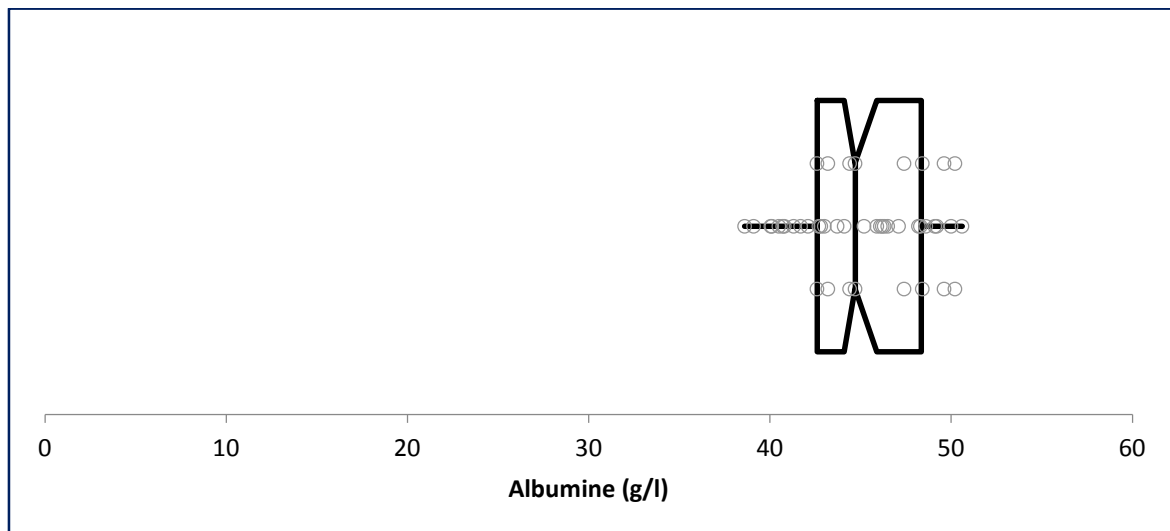
**Tableau XXV:** Transférabilité d'intervalle de RXL.

Intervalle du fournisseur	Test binomiale	% IR	% hors IR	Accepté
1,8-2,4	S P<0,0001	21	79	NON

### III.2.5.Albuminémie

#### 1. Données statistiques :

Représentation des valeurs normales par le logiciel REFERENCE VALUE ADVISOR, calculées par la méthode paramétrique sans transformation Box-Cox (car la valeur p d'Anderson-Darling >0.05).

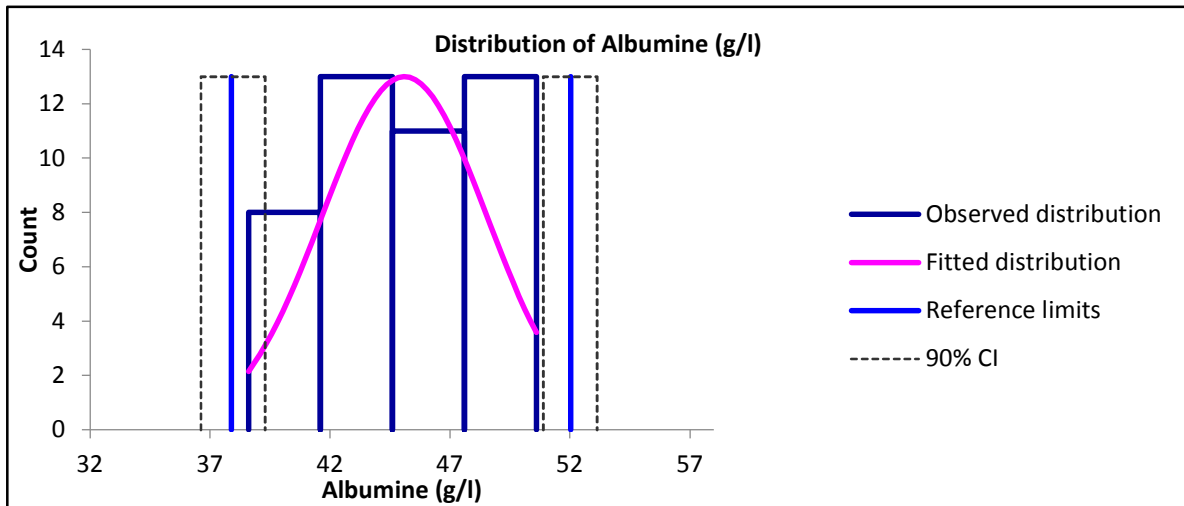


**Figure 25 :** Répartition des valeurs de l'albuminémie de notre population.

**Tableau XXVI:** Statistiques descriptives de notre population pour l'albuminémie.

Nombre du prélèvement	<b>45</b>
Valeur minimale	<b>38.6</b>
Valeur maximale	<b>50.6</b>
Moyenne	<b>45.1</b>
Médiane	<b>44.7</b>
Ecart type	<b>3.4</b>
Test de la distribution normale d'Anderson-Darling	<b>Normalité acceptée (P= 0,1623)</b>

# Résultats



**Figure 26 :** Distribution des valeurs de l'albuminémie de notre population.

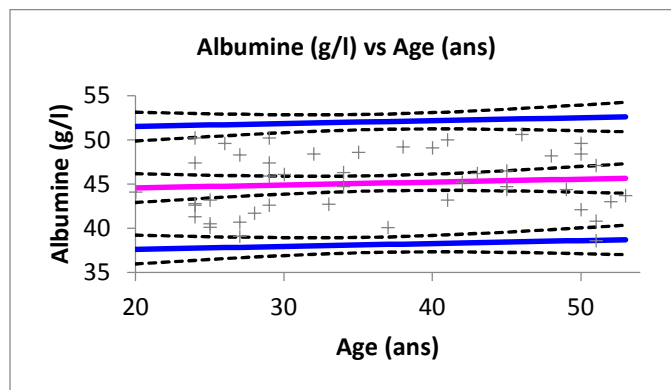
2. Essai d'établissement d'intervalle de référence de notre Population :

**Tableau XXVII:** Etablissement d'intervalle de référence de notre Population.

	<b>Méthode paramétrique standard (distribution normale).</b>
Limite Inferieure	38,1206
90% CI	36,7868 - 39,5224
Limite Supérieure	52,0820
90% CI	50,6065 - 53,4957

L'intervalle de référence retenu dans notre cas est celui de la méthode paramétrique standard (N= 45 < 120) : 38,12 – 52.08.

3. L'évolution de l'albuminémie en fonction de l'âge :



**Figure 27 :** L'évolution de l'albuminémie en fonction de l'âge.



## Résultats

Légère tendance à la diminution non significative de l'albuminémie avec l'âge ( $p=0.518$ ).

### 4. Transférabilité d'intervalle d'ADVIA :

**Tableau XXVIII:** Transférabilité d'intervalle d'ADVIA.

Intervalle du fournisseur	Test binomiale	% IR	% hors IR	Accepté
(34-50)	N S P=0,392	93	7	OUI

Nos résultats sont résumés dans le tableau ci-dessous :

**Tableau XXIX:** Résumé des résultats obtenus.

Paramètres	Nombre d'échant	Distribution normale	IR du labo	IR du Siemens	Transfert	IR observé
Parathormone (pg/ml)	45	Acceptée (P=0.555)	16-87	12-65	Accepté (NS P=0,608)	10.44-90.61
Ca (mg/l)	44	Acceptée (P=0.807)	85-105	85-100	Accepté (NS P=0,379)	81.17-101.08
P (mg/dl)	48	Acceptée (P=0.248)	2.5-5.1	2,5-5,1	Accepté (NS P=0,09)	2.04-4.40
Mg (mg/dl)	46	Acceptée (P=0.053)	1.9-2.5	1,8-2,4	Rejeté (S P<0,000 1)	1.6-2.5
Albumine (g/l)	45	Acceptée (P=0.162)	32-50	34-50	Accepté (NS P=0,392)	38.12-52.08

**S** : significative ; **NS** : non significative ; **P** : seuil de significativité ; **échant** : échantillon.

## Résultats

---

Les résultats de l'évolution des différents paramètres en fonction de l'âge sont résumés dans tableau suivant :

**Tableau XXX:** Observation des modifications du paramètre en fonction de l'âge.

Paramètre	Nombre d'échantillon	Age	Variation
Parathormone	45	P=0.005	Augmentation significative.
Ca	44	P=0.348	Augmentation non significative.
P	48	P=0.017	Diminution significative.
Mg	46	P=0.747	Aucune variation.
Albumine	45	P= 0.518	Diminution non significative.

**P** : seuil de significativité.

# **IV. Discussion**

### IV. Discussion

#### 1. Limites de l'étude

- Durée de l'étude insuffisante : La durée de notre étude était courte vu la période restreinte allouée aux mémoires de fin d'étude. Une période plus longue d'inclusion aurait permis d'augmenter le nombre des sujets dans cette étude.
- La taille de la population est de 48 participants : une étude sur un plus grand échantillon permettrait certainement de donner plus du sens aux résultats.
- Le caractère monocentrique de l'étude menée chez des sujets au niveau du seul centre hospitalier **TIDJANI Damerdji** de Tlemcen ne permettrait pas toutefois de généraliser les conclusions à l'ensemble de la population Algérienne.
- Difficulté d'accéder aux articles et guides payants.
- Rupture et manque de réactifs.
- Des pannes techniques nous ont obligés de changer le protocole (appareil d'immulite).
- Difficulté de venir au service chaque jour à cause de la pandémie du covid-19.
- Difficulté de trouver des sujets sains qui ne prennent pas du tabac, cela a pu provoquer une erreur dans la mesure où certains critères d'inclusion ne sont pas maîtrisables (la durée de jeun, l'alimentation...).

#### 2. Données sociodémographiques

##### a. Sexe

Dans notre échantillon, le sexe féminin était le plus prédominant (56%).

C'est le cas des résultats de l'étude en Arabie Saoudite menée par Anwar Borai, Kiyoshi Ichihara, Abdulaziz Masaud, Waleed Tamimi, Suhad Bahijri, David Armbuster, Reo Kawano, Ziad Baarmah, Faris Joatar and Mohammed Almohammadi en 2020 ont retrouvé une prépondérance féminine à 51,2 % **(94)**.

##### b. Age

Au cours de notre étude, nous avons enregistré un âge moyen de 35.88 ans. Ceci pourrait s'expliquer par la prédominance de l'âge adulte. Chiffre loin de celui retrouvé dans l'étude Rwanda en 2006 (25.5 ans) **(94)**.

3. Etudes similaires comparées à notre étude

Tableau XXXI: Etudes similaires comparées à notre étude.

Etude	Paramètres	Unité	IR calculés	IR étude	Automate ou technique utilisée	Test binomial
Chinoise	PTH	pg/ml	10,44-90,61	8,84-69,95	CLIA (Roche)	S P<0,0001
Australienne	Ca	mg/l	81,17-101,08	84-104	Cobas	NS P=0,187
	P	mg/dl	2,04-4,40	2,4-4,8	Cobas	S P=0,032
	Mg	mg/dl	1,6-2,5	1,68-2,64	Cobas	NS P=0,420
	Albumine	g/l	38,12-52,08	23-45	BCG (Cobas)	S P<0,0001
Rwandienne	P	mg/dl	2,04- 4,40	2,17- 4,97	Photométrie UV (Complexe phosphomolybdate) (Cobas)	NS P=0,567
	Albumine	g/l	38,12-52,08	31,50- 50,10	Spectrophotométrie d'absorption moléculaire (Cobas)	NS P=0,392
Tizi-Ouzou	Ca	mg/l	81,17-101,08	87,3-106,5	Colorimétrie (o-CPC) (Cobas)	S P<0,0001
	Mg	mg/dl	1,6-2,5	1,26- 1,74	Colorimétrie de Chlorophosphonazo III (CPZ III) (Cobas)	S P<0,0001
	Albumine	g/l	38,12-52,08	40,6- 55,5	Colorimétrie BCG (Cobas)	NS P=0,187
Saoudienne	PTH	pg/ml	10,44-90,61	25-120	CMIA (Architect)	NS P=0,187
Turque	PTH	pg/ml	10,44-90,61	15-65	ECLIA (Cobas)	S P<0,0001
	Ca	mg/l	81,17-101,08	84-100	Cobas	NS P=0,379
	P	mg/dl	2,04-4,40	2,56-4,8	Cobas	S P=0,009

NS : non significative      S : significative

### 4. Données du bilan phosphocalcique

#### Parathormone

La valeur moyenne de parathormone observée chez les adultes a été de 50.52pg/ml avec un intervalle de référence de 10.44 – 90.61pg/ml.

- ✚ Nous avons trouvé une différence significative entre nos IR et les IR de l'étude :
  - ✓ Chinoise menée par M. Li<sup>1</sup>, F. Lv<sup>1</sup>, Z. Zhang, W. Deng, Y. Li, Z. Deng, Y. Jiang, O.Wang, X. Xing, L.Xu et W.Xiaa en 2015(91).
  - ✓ Turquie menée par Müjgan Ercan, Emiş Deniz Akbulut, Esin Avcı, Çiğdem Yücel, Esra Fırat Oğuz, Turan Turhan, Muhittin Serdar en 2019 (46).

Cette différence peut être due aux : facteur génétique, ethnique, épidémiologique, environnemental, alimentaire, mode de vie et l'exercice physique intense (47).

La taille de l'échantillon de la population de référence peut avoir un impact sur les IR. De ce fait, notre étude a porté sur 45 individus, alors que l'étude chinoise sur 1436 (91).

Ces résultats sont confirmés par étude qui a été faite en Russie sur 95 familles en 2000 a démontré que les facteurs génétiques influent d'une façon significative à la variabilité interindividuelle de la PTH (au moins 30 %de la variabilité hormonale est liée à de tels facteurs) (92).

Les valeurs de référence peuvent différer d'un laboratoire à un autre du fait du non-respect de la chaîne du froid qui affecte la stabilité de PTH (63).

Le système analytique peut influencer aussi les IR même si on a utilisé la même technique de dosage :

Notre étude : CLIA → Immulite.

L'étude chinoise et turque →CLIA → Roche.

- ✚ Nous n'avons pas trouvé une différence significative entre nos IR et les IR de l'étude :
  - ✓ Saoudienne menée par Anwar Borai, Kiyoshi Ichihara, Abdulaziz Masaud, Waleed Tamimi, Suhad Bahijri, David Armbuster, Reo Kawano, Ziad Baarmah, Faris Joatar and Mohammed Almohammadi en 2020 (96).

Ceci peut être dû à la similarité alimentaire et démographique... etc.

### Calcium

La valeur moyenne de calcémie observée chez les adultes a été de 91.12 mg/l avec un intervalle de référence de 81.17 – 101.08mg/l.

- ✚ Nous avons trouvé une différence significative entre nos IR et les IR de l'étude :
- ✓ Faite à Tizi-Ouzou en 2018(1).

Cette différence peut être expliquée par l'alimentation (huile d'olive), le système analytique et la technique de dosage utilisée :

Notre étude : colorimétrique (Arsenazo III) → Siemens RXL ;

L'étude de Tizi-Ouzou : colorimétrique (o-CPC) → Cobas.

- ✚ Nous n'avons pas trouvé une différence significative entre nos IR et les IR de l'étude :
- ✓ Australienne menée par GUS KOERBIN et ROBERT FLATMAN en 2018 (93).
- ✓ Turque menée par Müjgan Ercan, Emiş Deniz Akbulut, Esin Avcı, Çiğdem Yücel, Esra Fırat Oğuz, Turan Turhan, Muhittin Serdar en 2019 (46).

### Phosphore

La valeur moyenne de phosphorémie observée chez les adultes a été de 3.22mg/dl avec un intervalle de référence de 2.04 – 4.40mg/dl.

- ✚ Nous avons trouvé une différence significative entre nos IR et les IR de l'étude :
- ✓ Turque menée par Müjgan Ercan, Emiş Deniz Akbulut, Esin Avcı, Çiğdem Yücel, Esra Fırat Oğuz, Turan Turhan, Muhittin Serdar en 2019 (46).
- ✓ Australienne menée par GUS KOERBIN et ROBERT FLATMAN en 2018 (93).

Cette différence peut être justifié par l'origine ethnique, géographique, environnementale, alimentaire (surtout s'il contient du phosphore) et l'exercice physique intense.

- ✚ Nous n'avons pas trouvé une différence significative entre nos IR et les IR de l'étude :
- ✓ Rwandienne par J.B. GAHUTU et J. WANE en 2006 (94).

Cela peut être dû à l'usage de la même technique de dosage :

Notre étude →Photométrie UV (Complexe phosphomolybdate) ;

L'étude rwandienne →Photométrie UV (Complexe phosphomolybdate).

### Magnésium

La valeur moyenne de magnésémie observée chez les adultes a été de 2.04 mg/dl avec un intervalle de référence de 1.6 – 2.5 mg/dl.

- ✚ Nous avons trouvé une différence significative entre nos IR et les IR de l'étude :
- ✓ Faite à Tizi-Ouzou en 2018 **(1)**.

Nous constatons que le système analytique influe sur établissement des IR de magnésémie :  
Notre Eude → Siemens Dimension Rxl ® ;  
Etude faite à Tizi-Ouzou → Cobas.

- ✚ Nous n'avons pas trouvé une différence significative entre nos IR et les IR de l'étude :
- ✓ Australienne menée par GUS KOERBIN et ROBERT FLATMAN en 2018 **(93)**.

### Albumine :

La valeur moyenne de l'albuminémie observée chez les adultes a été de 45.1 g/l avec un intervalle de référence de 38.12-52.08 g/l.

- ✚ Nous avons trouvé une différence significative entre nos IR et les IR de l'étude :
- ✓ Australienne menée par GUS KOERBIN et ROBERT FLATMAN en 2018 **(93)**.

Ces variations peuvent être expliquées par la mal nutrition protéino-énergétique et le système analytique utilisé :

Notre étude → BCG (Siemens ADVIA1800) ;  
Etude australienne → BCG (Cobas).

- ✚ Nous n'avons pas trouvé une différence significative entre nos IR et les IR de l'étude
- ✓ Rwandienne par J.B. GAHUTU et J. WANE en 2006 **(94)**.
- ✓ Faite à Tizi-Ouzou en 2018 **(1)**.

Nous constatons que l'origine ethnique et environnementale n'influe pas la concentration d'albumine.



### 5. Variations des paramètres du bilan phosphocalcique en fonction de l'âge

Les résultats de l'évolution des différents paramètres en fonction de ces facteurs sont résumés dans tableau XXXI.

- Pour la PTH, nous remarquons une augmentation significative avec l'âge, qui peut être expliquée par son rôle crucial dans le métabolisme phosphocalcique notamment chez la femme ménopausée.

La PTH augmente avec l'âge indépendamment de la 25-hydroxyvitamine D, du calcium ionisé, du phosphate et de la fonction rénale, d'environ 35 % dont le mécanisme reste mal élucidé **(63)(95)(97)**.

Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour explorer les mécanismes sous-jacents et la pertinence clinique et pour déterminer si l'utilisation des intervalles de référence de PTH liés à l'âge, améliore la précision du diagnostic **(97)**.

- Pour le calcium, nous remarquons une légère augmentation non significative avec l'âge qui peut être expliquée par l'augmentation de la masse osseuse au cours de la croissance **(58)**.
- Pour le phosphore, nous remarquons une diminution significative avec l'âge, cela peut être expliqué par le nombre réduit de notre population ce qui empêche de standardiser nos résultats **(58)**.
- Pour le Magnésium, il n'existe pas de variation significative en fonction de l'âge.
- Pour l'albumine, nous remarquons une légère diminution non significative avec l'âge qui peut être expliquée par la mal nutrition.

La plupart des paramètres biochimiques que nous avons étudiés, sont influencés par plusieurs facteurs liés le plus souvent à l'âge.

### 6. Transférabilité

Notre étude repose à vérifier le transfert des IR de 5 paramètres biochimiques chez l'adulte, pour cela nous avons sélectionné 48 sujets sains.

Les résultats de cette vérification sont résumés dans le tableau XXIX.

Nos résultats montrent que la transférabilité des IR du Siemens est acceptée pour 4 paramètres (Parathormone, Calcium, Phosphore et Albumine) et rejetée pour un seul paramètre mesuré (magnésium).

### **Pour parathormone :**

Notre IR est de 10,44 -90,61 pg/ml.

Nous n'avons pas trouvé une différence significative entre IR calculé et IR du fournisseur en utilisant le test binomial (5%), en effet 96 % des valeurs observées sont incluses dans IR du siemens. Donc IR du fournisseur est transférable.

### **Pour le calcium :**

Notre IR est de 81,17- 101,08 mg/l.

Nous n'avons pas trouvé une différence significative entre IR calculé et IR du fournisseur en utilisant le test binomial (5%).93% des valeurs appartiennent à IR du siemens. Donc le transfert est accepté avec (P=0,379).

### **Pour le phosphore :**

Notre IR est de 2.04 \_ 4.40mg/dl.

Nous n'avons pas trouvé une différence significative entre IR calculé et IR du fournisseur en utilisant le test binomial (5%), en effet 85 % des valeurs observées sont incluses dans IR du siemens. Donc IR du fournisseur est transférable.

### **Pour le magnésium :**

Notre IR est de 1,6-2,5mg/dl.

Nous avons trouvé une différence significative entre IR calculé et IR du fournisseur en utilisant le test binomial (5%), en effet 79% de valeurs observées sont hors IR du siemens. Donc IR du fournisseur est non transférable.

Ceci soulève des questions : une erreur analytique ? Notre population à un IR plus bas ? Notre population souffre d'hypomagnésémie ?

Afin de répondre à ces questions, une étude plus approfondie est préconisée, afin de déterminer le bon IR de notre population.

### **Pour l'albumine :**

Notre IR est de 38,12-52,08 g/l.

Nous n'avons pas trouvé une différence significative entre IR calculé et IR du fournisseur en utilisant le test binomial (5%), en effet 93 % des valeurs observées sont incluses dans IR du siemens. Donc IR du fournisseur est transférable.

La transférabilité est acceptable pour les quatre paramètres (parathormone, calcium, phosphore, albumine), mais il est préférable de garder nôtres IR calculés parce qu'ils présentent mieux notre population.

## **V. Recommandations et actions correctives**

### V. Recommandations et actions correctives

Les résultats montrent clairement la nécessité de poursuivre les travaux sur notre étude en recommandant de :

- Augmenter la taille de la population pour pouvoir calculer les intervalles de références et mieux généraliser les résultats ;
- Actualiser les valeurs de références de chaque nouveau lot arrivé ;
- Continuer l'étude sur l'établissement de valeur de référence des autres paramètres biochimiques ;
- Favoriser la réalisation de ce type d'étude par un soutien financier accru aux services par autorités hospitalières du C.H.U ;
- Etablir une collaboration entre cliniciens et les personnels du laboratoire d'analyses médicales pour améliorer la prise en charge des patients ;
- Bien former les personnels du service.



## **Conclusion générale**

---

### **Conclusion générale**

En conclusion, la biochimie médicale ou exploratrice est d'une importance capitale dans le dépistage et le diagnostic des diverses pathologies et assure d'autre part le suivi des malades. De nos jours, elle prend une ampleur tellement remarquable qu'elle offre une grande importance aux cliniciens en facilitant une meilleure prise en charge clinique.

Le concept des valeurs de référence en biologie clinique est l'un des moyens incontournables pour décrire les différentes valeurs que peuvent prendre les résultats des tests médicaux. Elles sont seulement un des éléments constitutifs de la décision médicale qui inclut l'analyse et la synthèse soigneuse de l'ensemble des données cliniques, biologiques et paracliniques.

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

Ces considérations sont à l'origine de l'étude que nous avons réalisée, elle est portée sur l'établissement des intervalles de référence de quelques paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique d'usage courant (parathormone, calcium, phosphore, magnésium et albumine) et la vérification de la transférabilité des intervalles de référence d'automate Siemens au niveau du CHU de Tlemcen.

Au terme de cette étude effectuée, nous notons qu'il n'y a pas de différence significative entre les intervalles de référence calculés et les intervalles de référence du fournisseur de Siemens. La transférabilité est acceptée pour la plupart des paramètres étudiés sauf pour le magnésium. Ainsi que l'évolution des paramètres étudiés en fonction de l'âge a montré l'influence de ce facteur sur certains paramètres.

L'étude mérite d'être poursuivie à la détermination des valeurs de référence des autres paramètres biochimiques en tenant compte de toutes les recommandations requises.

# **Références bibliographiques**



### Références bibliographiques

1. ALLALI M, BENHAMIDA R. Étude sur les valeurs de référence biochimiques chez l'homme adulte de la population de Tizi-Ouzou (Bilan rénal, acide urique, ionogramme, bilan phosphocalcique et mg, CK, LDH, Fer sérique, TP, albumine). 2018.
2. Geffré A. Nouvelles approches de la production d'intervalles de référence de populations: Université de Toulouse, Université Toulouse III-Paul Sabatier; 2011.
3. Geffré A, Friedrichs K, Harr K, Concordet D, Trumel C, Braun JP. Reference values: a review. *Veterinary clinical pathology*. 2009;38(3):288-98.
4. BOUABRE EA. Contribution à l'établissement des valeurs de référence de paramètres biologiques chez le burkinabe adulte: Thèse de doctorat en pharmacie 2002-2003; 1975.
5. Siest G. Chapitre I Les concepts de valeurs de référence et de valeurs usuelles. *Interprétation des examens de laboratoire*: Karger Publishers; 1981. p. 14-9.
6. Siest G, Vernet-Nyssen M. Le concept des valeurs de référence en biologie clinique (2e version). *Ann Biol Clin*. 1981;39:381-4.
7. Siest G, Henny J, Gräsbeck R, Wilding P, Petitclerc C, Queraltó JM, et al. The theory of reference values: an unfinished symphony. *Clinical chemistry and laboratory medicine*. 2013;51(1):47-64.
8. Rambaud L, Fillol C. Élaboration de valeurs de référence en population générale à partir d'études avec biomarqueurs. *Archives des Maladies Professionnelles et de l'Environnement*. 2017;78(2):175-81.
9. Henny J, editor *Determining and verifying reference intervals in clinical laboratories*. *Annales de biologie clinique*; 2011.
10. Solberg HE, Gräsbeck R. Reference values. *Advances in clinical chemistry*. 27: Elsevier; 1989. p. 1-79.
11. Henny J, Vassault A, Boursier G, Vukasovic I, Brguljan PM, Lohmander M, et al. Recommendation for the review of biological reference intervals in medical laboratories. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2016;54(12):1893-900.
12. Henny J, editor *Établissement et validation des intervalles de référence au laboratoire de biologie médicale*. *Annales de Biologie Clinique*; 2011.
13. Soubiran P, Annette-Reish M, Szymanowicz A. Périmètre et description de l'étape pré analytique. *Ann Biol Clin*. 2010;68(1):3-22.
14. GENDT L. Phase pré-analytique et norme NF EN ISO 15189. *SPECTRA BIOLOGIE*. 2010;184:40-5.
15. Togni G, Volken C, Sabo G, editors. *Préanalytique*. Forum Médical Suisse; 2002: EMH Media.
16. El Jahiri Y. *La phase préanalytique en Biologie Médicale*. 2011.
17. BOULARIAH Y, BOUNIF MA. Enquête sur l'usage de la biochimie clinique En milieu rural: *INSTITUT DES SCIENCE VETERINAIRE-université blida*; 2018.
18. Bernard H, Bruno B, Philippe L. *appareils et méthodes en biochimie et biologie moléculaire* 2008. 52 p.
19. MAKANERA Y. Vérification des performances analytiques de l'automate G7 de TOSOH BIOSCIENCES pour le dosage de l'HbA1c et des hémoglobines A2 et F par HPLC au laboratoire de Biochimie de l'HMIMV 2015.
20. DE LDP. *L'UFR/SDS: UNIVERSITE DE OUAGADOUGOU*; 1980.
21. Perret-Liaudet A. *Guide de bonne exécution des analyses de biologie médicale (GBEA)*; Spectra biologie. 1995(6):17-22.
22. Vassault A, Arnaud J, Szymanowicz A. Validation analytique des résultats. *Ann Biol Clin* 2010 *Qualité et accréditation en biologie médicale*; 2010;68(1):223-6.

## Références bibliographiques

---

23. Batna C. Phase post-analytique: Amélioration de la remise des résultats d'analyse par le développement d'un logiciel informatique au niveau du laboratoire de biochimie du CHU Batna. Post-analytical phase: Improvement of the communication of test results by the development of a computer software in biochemistry laboratory at.
24. Arnaud J, Adjidé V, Vassault A, editors. Comparaisons inter-laboratoires/évaluation externe de la qualité. *Annales de Biologie Clinique*; 2010.
25. Mohamed Z, DORRA B, VEZIN J. Mémoire d'intelligence méthodologique. 2014.
26. Badir Benkrelifa L. Étude et Réalisation d'une Interface Homme Machine dédiée à la Spectrophotométrie d'absorption Moléculaire: Application à la Télé Surveillance des Insuffisants Rénaux et cardiaques 2014.
27. Benkrelifa LB, Benabdellah M. Conception and Development of a Tele-Medical Interface Dedicated to Tele Monitoring of the Renal and Cardiacinsufficiency.
28. HADJ AHMED I, LALAYMIA Z-E. Exploration fonctionnelle respiratoire par photopléthysmographie infra-rouge 2015.
29. Benedetto D, Breuil P. Spectrophotométrie d'absorption dans l'ultraviolet et le visible. *Techniques de l'Ingenieur*. 2007;2595(1-20):doc 1-2.
30. Huybrechts B, Tangni EK, Debongnie P, Geys J, Callebaut A. Méthodes analytiques de détermination des mycotoxines dans les produits agricoles: une revue. *Cahiers Agricultures*. 2013;22(3):202-15 (1).
31. Even K. Développement d'outils innovants pour le diagnostic et la découverte de cibles dans le cancer du sein: Aix-Marseille; 2012.
32. Brunet B, Papet Y, Mura P, editors. Préparation d'échantillons pour analyses en immunochimie. *Annales de Toxicologie Analytique*; 2010: EDP Sciences.
33. Gueris J. Rôle physiologique et quantification de la parathormone humaine dans les liquides biologiques: difficultés méthodologiques et interprétation. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*. 1993;8(6):339-47.
34. Massart C, Gauchez A-S. Caractéristiques immuno-analytiques de la parathormone (PTH). *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*. 2012;27(2):79-82.
35. KHALDI ME, IKHLEF A. Variations de la parathormone et du bilan phosphocalcique chez les insuffisants rénaux chroniques hémodialysés au CHU-Tlemcen 2018.
36. Vallet M, Tack I. Physiologie du calcium et des phosphates. *Revue du Rhumatisme monographies*. 2012;79(4):203-9.
37. Courbebaisse M, Souberbielle J-C. Equilibre phosphocalcique: régulation et explorations. *Néphrologie & Thérapeutique*. 2011;7(2):118-38.
38. Holick MF, editor Calcium and vitamin D in human health. *Annales Nestle*; 2002: NESTEC LTD.
39. LES VALEURS DCED, LES PC. Docteur en médecine.
40. Martin C, Vallet B, Riou B. Physiologie humaine appliquée (2e édition): Arnette-John Libbey Eurotext; 2017.
41. Lesage A. LE RACHITISME. *sang*.3:4.
42. Favus MJ, Bushinsky DA, Lemann J. Regulation of calcium, magnesium, and phosphate metabolism. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 2006;6:76-83.
43. Weisinger JR, Bellorín-Font E. Magnesium and phosphorus. *The Lancet*. 1998;352(9125):391-6.
44. Émile C. Particularités du métabolisme phosphocalcique chez la femme. *Option/Bio*. 2009;20(414):13-4.
45. Cormier C. Rôle de la parathormone dans l'ostéoporose. *La Presse Médicale*. 2006;35(3):495-501.

## Références bibliographiques

---

46. Ercan M, Akbulut ED, Avci E, Yucel C, Oguz EF, Turhan T, et al. Determining biological variation of serum parathyroid hormone in healthy adults. *Biochemia medica*. 2019;29(3):030702.
47. Cavalier E, Plebani M, Delanaye P, Souberbielle J-C. Considerations in parathyroid hormone testing. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2015;53(12):1913-9.
48. Bacchetta J, Jolivot A, Souberbielle J-C, Charrié A, Guebre F, Chauvet C, et al. Parathormone et maladie rénale chronique. *Néphrologie & thérapeutique*. 2007;3(4):133-8.
49. Javier R-M. Hyperparathyroïdies secondaires (hors insuffisance rénale). *Revue du Rhumatisme monographies*. 2012;79(4):239-43.
50. Steens-Lievens A. Adaptation Photométrique D'Une Methode Rapide De Dosage Du Calcium Dans Le Serum Sanguin. *Acta Clinica Belgica*. 1956;11(4):323-31.
51. Salle B, Lapillonne A, Duhamel J, Godeau P, j Menkès C, Bounhoure J, et al. Statut vitaminique, rôle extra osseux et besoins quotidiens en vitamine D. *Bulletin de l'Académie nationale de médecine*. 2012;196(4-5):1011-5.
52. CHACHI EM. La vitamine D et sa face si longtemps ignorée que rapporte la littérature récente? 2015.
53. KENZA K, SAFA M. Hyperparathyroïdie Secondaire à une Carence en Vitamine D et les Paramètres Phosphocalciques.
54. AISSI R, AGUENINI F. Contribution a l'etude du statut de la vitamine D et de quelques paramètres biochimiques et inflammatoires chez une population atteinte par le syndrome de Gougerot-sjogren primaire 2018.
55. Vernay M, Sponga M, Salanave B, Oléko A, Deschamps V, Malon A, et al. Statut en vitamine D de la population adulte en France: l'étude nationale nutrition santé (ENNS, 2006–2007). *BEH*. 2012;16:189-94.
56. Cavalier E, de Liège C. Place du dosage de la vitamine D. 2010.
57. Bjurholm A. Neuroendocrine peptides in bone. *International orthopaedics*. 1991;15(4):325-9.
58. Parent X, Javier R-M. Pièges et contraintes des dosages du calcium, des phosphates et du magnésium. *Revue du Rhumatisme monographies*. 2012;79(4):215-20.
59. Bencharif M. Alimentation, état nutritionnel, apport calcique et calcémie d'une population de jeunes adultes. 2011.
60. Cartier P, Clement-Metral J. Ultra-microdosage automatique du calcium sérique. *Clinica Chimica Acta*. 1959;4(3):357-63.
61. Gueguen L, Rombauts P, editors. Dosage du sodium, du potassium, du calcium et du magnésium par spectrophotométrie de flamme dans les aliments, le lait et les excreta. *Annales de Biologie Animale Biochimie Biophysique*; 1961: EDP Sciences.
62. Poupon C, Lefèvre G, Ngo-François S, Alibeu C, Barbé F, Bourbonneux V, et al., editors. Interférence de l'hémolyse sur les examens de biologie médicale utilisés en biochimie d'urgence: étude multicentrique nationale. *Annales de biologie clinique*; 2015.
63. Migliardi M, Marranca D. Mesure de la parathormone: facteurs de variation et problèmes de standardisation. *Immuno-analyse & Biologie spécialisée*. 2006;21(2):119-26.
64. Farrell CJL, Nguyen L, Carter AC. Parathyroid hormone: Data mining for age-related reference intervals in adults. *Clinical endocrinology*. 2018;88(2):311-7.
65. Ndongo S, Ley A, Diouf B, Leye Y, Diallo S. Hypoparathyroïdie primitive et syndrome de Gougerot-Sjögren: y at-il un lien. *La Lettre du rhumatologue*. 2009;349:31-2.
66. Basuyau J, Mallet E, Leroy M, Gray C. Dosage de la calcitonine sérique sur Advantage®(Nichols). Bilan de quatre ans d'utilisation. Définitions de valeurs usuelles en fonction de l'âge et du sexe. *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*. 2005;20(1):16-20.
67. d'Herbomez M. Dosages de la calcitonine: indications et interprétation. *La Presse Médicale*. 2011;40(12):1141-6.

## Références bibliographiques

---

68. Garabedian M. Dosage des vitamines D circulantes (méthodologie, pièges analytiques, intérêt clinique). *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*. 1991;6(1):29-35.
69. Le Goff C, Souberbielle J-C, Delvin E, Cavalier É. Le dosage de la vitamine D: considérations pré-analytiques et analytiques. *Ann Biol Clin*. 2015;73(1):79-92.
70. Saulais C. Calcium et magnésium dans l'organisme humain: trois sites d'action comparés; ostéogénèse, fonction rénale, influx nerveux: UHP-Université Henri Poincaré; 2000.
71. Blanchard A, Vargas-Poussou R. Désordres de la magnésémie. *Néphrologie & thérapeutique*. 2012;8(6):482-91.
72. Rusconi Y, Monnier D, Wenger P. Dosage spectrophotométrique du magnésium. *Helvetica Chimica Acta*. 1948;31(6):1549-52.
73. Bohuon C. Microdosage du magnésium dans divers milieux biologiques. *Clinica Chimica Acta*. 1962;7(6):811-7.
74. Arques S, editor Albumine sérique et insuffisance cardiaque: données récentes sur un nouveau paradigme. *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*; 2011: Elsevier.
75. Chousterman BG, Payen D. L'albumine en anesthésie-réanimation.
76. Parent X, Spielmann C, Hanser A, editors. Calcémie «corrigée»: sous-estimation du statut calcique des patients sans hypoalbuminémie et des patients hypercalcémiques. *Annales de Biologie Clinique*; 2009.
77. Solberg H, Stamm D. Approved Recommendation on the Theory of Reference Values. 1991.
78. Walton RM, editor Establishing reference intervals: health as a relative concept. *Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine*; 2001: Elsevier.
79. Siest G, Henny J. Chapitre IV Utilisation et présentation des valeurs de référence. *Interprétation des examens de laboratoire*: Karger Publishers; 1981. p. 31-44.
80. Truchon G, Tardif R, Droz P-O, Charest-Tardif G, Pierrehumbert G, Drolet D. Quantification de la variabilité biologique à l'aide de la modélisation: élaboration d'un guide de stratégie pour la surveillance biologique de l'exposition. 2003.
81. Michallet I. Diversité biologique (définition). 2017.
82. De Ribaupierre A. Pourquoi faut-il étudier la variabilité intra-individuelle lorsqu'on s'intéresse au développement cognitif. *Différences et Variabilité en Psychologie*; Juhel, J, Rouxel, G, Eds. 2015:159-78.
83. Cotlove E, Harris EK, Williams GZ. Biological and analytic components of variation in long-term studies of serum constituents in normal subjects: III. Physiological and medical implications. *Clinical Chemistry*. 1970;16(12):1028-32.
84. Fraser CG. Biological variation: from principles to practice: Amer. Assoc. for Clinical Chemistry; 2001.
85. Krøll J, Saxtrup O. On the use of patient data for the definition of reference intervals in clinical chemistry. *Scandinavian journal of clinical and laboratory investigation*. 1998;58(6):469-74.
86. Sunderman FW. Current concepts of "normal values," "reference values," and "discrimination values" in clinical chemistry. *Clinical Chemistry*; 1975.
87. Fages J. Les Répercussions oculaires des maladies à prions expérimentales et spontanées chez l'animal 2014.
88. Friedrichs KR, Harr KE, Freeman KP, Szladovits B, Walton RM, Barnhart KF, et al. ASVCP reference interval guidelines: determination of de novo reference intervals in veterinary species and other related topics. *Veterinary clinical pathology*. 2012;41(4):441-53.
89. Denys N. Détermination des intervalles de référence des variables biochimiques sanguines chez le chat au laboratoire de biochimie de l'ENVA 2014.
90. Geffré A, Concordet D, Braun JP, Trumel C. Reference Value Advisor: a new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel. *Veterinary Clinical Pathology*. 2011;40(1):107-12.

## Références bibliographiques

---

91. Li M, Lv F, Zhang Z, Deng W, Li Y, Deng Z, et al. Establishment of a normal reference value of parathyroid hormone in a large healthy Chinese population and evaluation of its relation to bone turnover and bone mineral density. *Osteoporosis International*. 2016;27(5):1907-16.
92. Otremski I, Karasik D, Livshits G. Genetic variation and covariation of parathyroid hormone levels and bone density in the human population. *Calcified tissue international*. 2000;66(3):168-75.
93. Koerbin G, Sikaris K, Jones GR, Flatman R, Tate JR. An update report on the harmonization of adult reference intervals in Australasia. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2018;57(1):38-41.
94. Gahutu J, Wane J. Reference values for serum protein and electrolyte study from Rwanda. *East African medical journal*. 2006;83(2):64-7.
95. SHERMAN SS, HOLLIS BW, TOBIN JD. Vitamin D status and related parameters in a healthy population: the effects of age, sex, and season. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 1990;71(2):405-13.
96. Borai A, Ichihara K, Masaud A, Tamimi W, Bahijri S, Armbuster D, et al. Establishment of reference intervals for immunoassay analytes of adult population in Saudi Arabia. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)*. 2020;1(ahead-of-print).
97. Carrivick SJ, Walsh JP, Brown SJ, Wardrop R, Hadlow NC. Brief report: does PTH increase with age, independent of 25-hydroxyvitamin D, phosphate, renal function, and ionized calcium? *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2015;100(5):2131-4.

# **Annexes**

## Annexes

### Annexe I

Facteur de variation biologique	Modifiable ou non modifiables	Influence
Age	Modifiables	Les concentrations de nombreux composants changent avec l'âge. Exemple : l'hémoglobine.
Sexe		Les influences du sexe sont fixes et impossibles ou difficiles à modifier par action exogène : Exemple : <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ De différences mineures : des composants de l'urate de sérum ;</li> <li>✓ De grandes différences : les concentrations sériques d'hormones sexuelles, d'enzymes (acide prostatique phosphatase), d'hémoglobine sanguine, et d'érythrocytes.</li> </ul>
La race		Des différences génétiques sont naturellement observées dans les marqueurs génétiques. Exemple : <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ les substances des groupes sanguins et les antigènes HLA</li> </ul> Les noirs américains ont tendance à avoir des concentrations d'immunoglobulines plus élevées dans le sérum que la population blanche et aux États-Unis.
La nature des aliments consommés	Non modifiables	Reflète souvent dans la composition du plasma et de l'urine. Exemple : <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Le jeûne augmente la concentration de bilirubine et provoque une acidose ;</li> <li>✓ Un régime purement végétarien peut causer des faibles concentrations de cobalamine sérique ;</li> <li>✓ Grandes quantités des oranges ou les carottes peuvent causer des taux de carotène sérique excessivement élevés.</li> </ul>
Les enzymes digestives		L'amylase sérique peut réagir à l'ingestion d'aliments.
Posture		La posture influence sur la concentration des substances macromoléculaires et les composants cellulaires du sang : Exemple : La protéine sérique totale change en moyenne d'environ 8 % lors du passage de la position couchée à la position debout.
Lieu de prélèvement des échantillons		La composition du sang varie selon qu'il est obtenu ou non en perforant une veine ou une artère ou en piquant la peau. <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Ponction cutanée : le sang ressemble ;</li> </ul>

## Annexes

		<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Au sang artériel : C'est plus oxygéné et a une concentration de glucose plus élevée que le sang veineux.</li> </ul>
Exercice physique		<p>Exercices intenses (marcher sur de longues distances en transportant un poids lourd.) peuvent perturber le processus de l'analyse. Exemple : la créatine sérique kinase augmente après un exercice modérément lourd.</p>
Rythme chronologique		<p>Rythmes biologiques : circadien, hebdomadaire, saisonnier et menstruel peuvent avoir fortes variations.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Exemple : le cortisol varie en fonction du rythme circadien.</li> </ul>
Activité des organes sexuels		<ul style="list-style-type: none"> <li>✓ La grossesse influence sur beaucoup des composés qui ne sont pas directement liés à la fonction reproductrice. Particulièrement, sur les concentrations de certaines protéines sériques, par exemple : l'augmentation des lipoprotéines et la céruléoplasmine ;</li> <li>✓ Le cycle menstruel provoque des fluctuations dans la sécrétion d'œstrogènes et de progestatifs.</li> </ul>
Agents pharmacologiques		<p>Les médicaments et autres agents pharmacologiques s'influencent fortement et spécifiquement sur les constituants du sang et urine. Exemple :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>✓ Contraceptifs oraux modifient la concentration des macroglobulines, lipoprotéines, transferrine, et plasminogène ;</li> <li>✓ La consommation d'alcool augmentait l'aspartate sérique et l'alanine aminotransférase.</li> </ul>
Emplacement géographique		<p>Les immigrantes orientales ont des taux plasmatiques d'estradiol plus élevés que leurs homologues caucasiens ; cette déférence est expliquée par l'apport alimentaire en gras et en fibres.</p>
Altitude		<p>L'effet d'altitude sur la concentration d'hémoglobine est bien connu.</p>
Situation socioéconomique		<p>Les concentrations moyennes de cholestérol sérique diffèrent d'un groupe socioéconomique à l'autre. Exemple : en Afrique du Sud, les habitudes alimentaires jouent également un rôle à cet égard.</p>





# Annexes

## Annexe III :

CENTRE HOSPITALIER UNIVERSITAIRE Dr. TIDJANI DAMERDJI - TLEMCEM  
المركز الإستشفائي الجامعي الدكتور تيجاني دمرجني - تلمسان

SERVICE DE \_\_\_\_\_

ORDONNANCE MÉDICALE  
وصفة طبية

Tlemcen, le 22 01 2020  
Nom et prénom du patient Amouri Mostapha  
Date de naissance 34 ans  
N° d'immatriculation assuré social \_\_\_\_\_

À faire SVP :

- Calcémie, Phosphore, Ng - Albumine
- PTH

DR. KAZI AOUAL 2020  
Assistant en Pharmacie

Le médecin prescripteur  
Nom et prénom \_\_\_\_\_  
Signature et cachet \_\_\_\_\_

## Résumé

Les intervalles de référence représentent les variations des paramètres biochimiques en fonction de la population de référence et de la méthode analytique, et sont utilisés quotidiennement par les cliniciens des laboratoires de biologie médicale.

En effet, leur détermination fait l'objet des recommandations internationales ISO, IFCC et CLSI suivant un protocole original bien déterminé.

Notre étude est réalisée au niveau de laboratoire de biochimie du CHU de TLEMCEN dans le but d'établir les IR de quelques paramètres biochimiques du bilan phosphocalcique : parathormone, calcium, phosphore, magnésium et albumine, et de vérifier la transférabilité des IR du fournisseur du Siemens, en travaillant sur 48 sujets sains provenant des différentes régions de TLEMCEN. La transférabilité est décrite pour ces paramètres après avoir comparé nos résultats avec les IR du fournisseur du Siemens, en tenant compte de l'influence de l'âge sur ces résultats. Les IR des fournisseurs sont transférables pour les quatre paramètres sauf magnésium.

L'établissement des intervalles de référence va mieux aider les cliniciens à améliorer la prise en charge des malades.

**Mots clés :** Intervalle de référence, population de référence, transférabilité.

## المخلص

المجال المرجعي يمثل التغيرات في التحاليل البيوكيميائية الذي يتغير بتغير الفئة المرجعية والطريقة التحليلية المستعملة، ويتم استخدام هذه المجالات يوميًا من قبل الأطباء في مختبرات الطب البيولوجية.

إن تحديد المجال المرجعي يخضع لتوصيات من طرف الهيئات الدولية العالمية مثل CLSI ISO IFCC.

تم إجراء دراستنا على مستوى المختبر الكيميائي الحيوي للمركز الاستشفائي الجامعي لتلمسان من أجل تحديد المجالات المرجعية لبعض التحاليل

البيوكيميائية: باراثورمون الكالسيوم، الفوسفور المغنيزيوم والالبومين والتحقق من قابلية تحويل المجالات المرجعية للمنتج Siemens، من خلال

العمل على عينة مرجعية لـ 48 شخص سليم من مناطق مختلفة من تلمسان ويتم دراسة قابلية التحويل لهذه التحاليل بعد مقارنة نتائجنا مع المجالات

المرجعية المحددة من طرف منتج Siemens، ودراسة تأثير العمر على هذه النتائج.

المجالات المرجعية المحددة من طرف منتج قابلة للتحويل بالنسبة للتحاليل الأربعة ماعدا المغنيزيوم.

تحديد المجالات المرجعية سيساعد الأطباء على تحسين مداواة المريض وعلاجه.

**الكلمات المفتاحية:** المجال المرجعي، الفئة المرجعية، قابلية التحويل.

## Abstract

Reference intervals represent the variation in biochemical parameters as a function of the reference population and the analytical method, and are used daily by clinicians in medical biology laboratories.

The determination of RI submits to recommendations ISO, IFCC and CLSI by following an original protocol well determined.

Our study is realised in the biochemistry laboratory of the CHU of TLEMCEN for establishment of RI of some biochemical parameters of phosphocalcic balance : parathyroid hormone (PTH), calcium, phosphorus, magnesium et albumin, and verification of transferability of RI of producer of Siemens by working on 48 healthy individuals from the different regions of TLEMCEN. The transferability is studied for these parameters after comparing our results with Reference intervals of producer of Siemens, and we study the influence of age on these results. The RI of producer are transferable for the four parameters except magnesium.

Establishment of RI will help the clinicians to give the best therapy for patients.

**Keywords :** Reference interval, reference population, transferability.