

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -



FACULTE DE MEDECINE.

DEPARTEMENT DE PHARMACIE.

Dosage de la bilirubine chez le nouveau-né : étude comparative de deux réactifs CHU Blida

Thèse d'exercice de fin d'études

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

Session : Septembre 2017.

Présentée par :

- Chekhoum kaouthar
- Zegadi Soumia

Devant le jury :

❖ PR. BELOUNI .R

Médecin professeur en Microbiologie Médicale CHU FF Blida

Président de Jury

❖ DR. OUNAS .S

Praticien spécialiste chef en Biologie Clinique CHU FF Blida

Examinatrice

❖ DR. MAHFOUD .M

Pharmacien Maitre assistant en microbiologie médicale

Examineur

❖ PR. ABDI.S

Médecin Professeur en Biochimie médicale CHU FF Blida

Promotrice

Remerciements

*Nous tenons avant tout à remercier **ALLAH**, le tout puissant et miséricordieux, le bienfaiteur, qui nous a ouvert les portes du savoir et qui nous a donné l'inspiration, la patience, la volonté d'accomplir cette étude*

Nôtre sincères remerciements à notre promotrice professeur ***Abdi S*** :

Pour avoir nous encadré et donné la chance de partager ce travail avec vous, pour vos précieux conseils et votre patience, et surtout pour votre modestie, simplicité, votre gentillesse, et disponibilité, vous étiez un exemple à suivre.

Merci au président du jury, à notre professeur ***Belouni R*** :

Vous nous faites l'honneur de présider cette thèse

Nous vous remercions pour votre attention et vos efforts que vous aviez fait pour notre promotion.

Merci à Docteur ***Ounas S*** :

Vous nous faites l'honneur de juger notre thèse

Merci d'avoir accepté de participer aux membres de jury

Merci à Docteur ***Mahfoud M*** :

Vous nous faites l'honneur de juger notre thèse

Vous trouverez ici nos sincères remerciements pour votre attention et vos efforts que vous aviez fait pour notre promotion.

Nous remercions également Docteur ***Benhallel A*** :

Merci pour votre temps, vos conseils et votre patience, nous avons appris beaucoup de chose grâce à vous, merci pour votre compréhension aussi, ce travail ne serait pas aussi riche sans votre aide.

Nous tenons à exprimer notre vive gratitude à **Mr. Ben cheikh**, le chef de service du laboratoire de l'unité Hassiba Benbouali, de nous avoir permis d'effectuer notre stage pratique au sein de ce laboratoire sans oublier la générosité et la serviabilité de **Mr .Achour** ainsi que toute l'équipe

Nous remercions vivement le personnel du laboratoire central CHU Frantz Fanon Blida pour leurs aides, sans eux, nos conditions de travail auraient sans doute été très différentes et beaucoup plus incommodes.

Nos profonds remerciements vont également à toutes les personnes qui nous ont aidés et soutenu de près ou de loin.

Chekhoun kaouthar et Zegadi Soumia



Dédicace

Je tiens à exprimer ma plus profonde reconnaissance à :

Mes parents, qui ont œuvré pour ma réussite, de par leur amour, tous les sacrifices consentis et leurs précieux conseils. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferais toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir.

Ma mère de cœur, Aïcha, En signe de reconnaissance pour ton amour, ta tendresse et surtout tes prières pour moi.

Mon trésor, mes sœurs Ola et Loubna et mon petit prince, mon Ahmed, merci pour donner du gout à ma vie.

Mes chères tantes, merci pour me donner le vrai sens de la famille.

Ma chère amie, ma copine de chambre et mon binôme Soumia, qui n'a pas cessé d'être pour moi un exemple de l'amie fidèle et généreuse, j'oublierai jamais les bons moments qui nous ont réunis.

Hanan et Houda, qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient à mes côtés et qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures. Vous êtes les meilleures.

Pr. Abdi.S, merci pour votre gentillesse et votre modestie.

Tous ceux dont j'ai bien aimé la présence dans ma vie, que dieu, le tout puissant, vous préserve et vous garde pour moi.

Chekhoun Kaouthar.

Dédicace



Je dédie ce travail à :

Mes chers parents,

Si je suis là aujourd'hui, c'est grâce à vous, merci pour votre soutien, votre amour qui m'a entouré et qui m'a encouragé toujours, merci pour votre écoute, cela était une arme plus que précieuse pour ma réussite.

Merci pour votre éducation, vos sacrifices qui m'ont permis de poursuivre mon chemin que j'aspire dans les meilleures conditions qui soient. Pour tout cela, je ne vous remercierai jamais assez

J'espère que je vous ai rendu fiers, je vous aime trop. Que dieu vous protège pour moi

Mes meilleurs frères, Mohamed et Achref, ma fierté, merci pour votre présence à côté de moi à tout moment

Mes adorables sœurs, Sarah, Hadjer, et ma perle *Hiba*, qui m'ont toujours encouragé, merci pour votre soutien et votre amour.

À toute ma famille et un spécial remerciement pour ma tante *Fouzia* et son mari *Habib*, merci pour votre générosité, votre soutien, amour tout au long de mon parcours universitaire

Mes meilleurs amies, *Hanane, Houda, Ahlem*, je ne sais pas quoi dire, Merci d'être là pour moi, merci Pour Tous les Moments qu'on avait partagé et Vécu ensemble, votre connaissance me fait un grand plaisir je vous oublierai jamais, je vous aime trop

Je tiens à remercier la meilleure des amies ,ma binôme *kaouthar* , qu'était plus qu'une amie et qu'un binôme ,tu étais une sœur ,merci pour ta compréhension ,ton aide , ton amour ,ta patience et ton soutien ,que dieu te garde toujours pour moi .

Merci à toutes les personnes qui m'ont aidé et encouragé tout au long de mon cursus et qui ont participé pour la réalisation de cette études de près ou de loin.

Zegadi Soumia

Tables des matières

Remerciements	II
Dédicaces	III
Liste des figures.....	VII
Liste des abréviations.....	VIII
Introduction.....	01

PARTIE THEORIQUE

Chapitre I : Rappel anatomo-physiologique de l'appareil hépatobiliaire

I. Le foie	04
I.1. Anatomie du foie	04
I.2. Principales fonction du foie	08
II. Les voies biliaires	11
II.1 .Anatomie des voies biliaires	11
II.2 : Les fonctions des voies biliaires	13

Chapitre II : La bilirubine

I. Définition	15
II. Les différentes formes de la bilirubine	15
III. Structure et propriétés physico-chimique	16
IV. Origine de la bilirubine	17
V. Formation de la bilirubine	19
VI. Transport plasmatique	21
VII. Métabolisme physiologique de la bilirubine	21
VIII. Effets de la bilirubine dans l'organisme	25

Chapitre III : Hyperbilirubinémie

I.	Définitions	28
II.	Classification des ictères	29
III.	La prise en charge de l'Hyperbilirubinémie.....	30

Chapitre IV : Exploration biochimique de la bilirubine

I.	Les méthodes par diazoréaction	41
II.	Mesure par spectrométrie directe	43
III.	Méthodes par oxydation	45

PARTIE PRATIQUE

Chapitre I : Matériel et méthodes

I.	Matériel	47
I.1.	Matériel biologique	47
I.2.	Matériel non biologique	48
II.	Méthodes	50
II.1.	Méthode Jendrassik-Groft.....	50
II.2.	Méthode au DMSO.....	54
III.	Interférences analytiques.....	57
IV.	Valeurs de référence	58
V.	Logiciels et tests statistiques utilisés.....	59

Chapitre II : Résultats et discussion

A.	Résultats.....	61
B.	Discussion	84

Conclusion	88
-------------------------	-----------

Références bibliographiques.....	90
---	-----------

Annexe	91
---------------------	-----------

Glossaire.....	101
-----------------------	------------

Liste des figures

Figure 1 : le foie dans le système digestif	P: 04
Figure2 : faces viscérales du foie (<i>Richard.L, 2011</i>)	P : 06
Figure 3 : Disposition anatomique et nomenclature des voies biliaires (<i>J.Frexinos.1991</i>).....	P : 12
Figure 4 : structure de la bilirubine.....	P : 16
Figure 5 : Les caractères physico-chimiques et les propriétés physiologiques des 2 formes de bilirubine (<i>J.Frexinos ,1991</i>).....	P : 17
Figure 6 : Bilirubine précoce et bilirubine tardive.....	P :18
Figure 7 : Schéma représentant les différentes étapes de la formation de la bilirubine (Harper, 2008).....	P : 20
Figure 8 : structure du diglucuronide de la bilirubine (<i>Denis D, 1994</i>)	P:23
Figure 9 : Métabolisme hépatique de la bilirubine (<i>Schmid, 1978</i>).....	P : 23
Figure 10 : Mécanisme de la conjugaison intra-hépatique de la bilirubine.....	P :24
Figure 11 : Classification des ictères Schaffner et Popper, 1957.....	P : 29
Figure 12 : Mécanisme d'action de la photothérapie (<i>B. Branger, 2006</i>).....	P : 36
Figure 13 : Indications de la photothérapie	P :38
Figure 14 : indication de l'exsanguino-transfusion.....	P : 38

Liste des abréviations

- **A** : absorbance
- **AAP** : *American Academy of Pediatrics*
- **ABC** : ATP Binding Cassette
- **Abs** : absorbance
- **Acétyle-COA** : acétyle coenzyme A.
- **ATP** : Adénosine-Triphosphate
- **B.C** : Bilirubine conjuguée
- **BD** : bilirubine directe
- **bilirubine-UGT** : bilirubine - Uridine 5'-diphospho-glucuronyltransférase
- **B.N.C** : bilirubine non conjuguée
- **BT** : bilirubine totale
- **BuBc** : Bilirubine non conjuguée et Bilirubine conjugué
- **CLHP** : Chromatographie liquide Haute performance
- **CO** : monoxyde de carbone
- **Conc** : concentration
- **CV** : coefficient de variabilité
- **DMSO** : diméthyle sulfoxyde
- **EDTA** : Éthylène Diamine Tétra-Acétique
- **EST** : Exsanguino-transfusion
- **F** : facteur
- **G6PD** : glucose-6-phosphate déshydrogénase
- **GSH** : glutathion SH (forme réduite)
- **H** : hypothèse
- **HB** : hyperbilirubinémie
- **HCl** : acide chlorhydrique
- **HDL** : high density lipoprotein
- **I.F.M** : Incompatibilité foëto-maternelle
- **L1** : c'est la première vertèbre appartenant au rachis lombaire au niveau du bas dos.
- **LCR** : liquide céphalo-rachidien

- **m** : moyenne d'échantillon
- **min** : minute
- **MOAT** : transporteur d'anions organiques multispécifique
- **MRP2** : Multidrug resistance-associated protein 2
- **n** : le nombre d'échantillon étudié
- **NaCl** : chlorure de sodium
- **NADPH** : Nicotinamide adénine di nucléotide phosphate hydrogène
- **NaOH** : l'hydroxyde de sodium
- **r** : coefficient de corrélation
- **R** : réactif
- **S** : variance d'un échantillon
- **SA** : semaine
- **SDS** : dodécylsulfate de sodium
- **SI** : système international
- **UDP-glycuronique** : Urine Di Phosphate glycuronique
- **UDPGT** : Uridine 5'-diphospho-glucuronyltransférase
- **VLDL** : very low density liporprotein
- **Vol** : volume
- **γ-GT** : gamma- glutamyl transpeptidase
- **μ** : moyenne d'une population

Introduction

La bilirubine est un produit issu de la dégradation du pigment porphyrinique de l'hémoglobine au niveau des cellules du système réticulo-endothéliale (foie, rate, moelle osseuseetc.).

Elle circule dans le sang sous 2 formes, la bilirubine non conjuguée dite libre, lipophile, c'est la plus prédominante, elle circule dans le sang liée à l'albumine et sa concentration plasmatique ne doit pas dépasser **10mg/l**.

La bilirubine conjuguée quant à elle circule librement dans le sang, sa concentration sérique est $\leq 3.5\text{mg}$, elle est soluble et elle est facilement éliminable par le foie et les reins.

La bilirubine libre est une substance potentiellement toxique pour le cerveau en raison de sa liposolubilité. Au cours de l'ictère hémolytique du nouveau-né où sa formation est exagérée du fait d'une destruction excessive pathologique des globules rouges, elle précipite sur les noyaux gris centraux entraînant une encéphalopathie bilirubinique ou ictère nucléaire, très grave par les séquelles neurologiques irréversibles qu'elle entraîne.

Le dosage de la bilirubine totale est alors une extrême urgence pédiatrique dont dépend la conduite thérapeutique comme l'exsanguino-transfusion.

Il existe différentes méthodes de dosage de la bilirubine, dont la plus utilisée est la méthode basée sur la diazoréaction.

Le dosage de la bilirubine conjuguée est direct d'où l'appellation bilirubine directe, par contre celui de la bilirubine libre est indirect, Une étape de sa libération de l'albumine par des substances différentes tels que la caféine ou le DMSO précède son dosage et permet de diversifier les réactifs de dosage de la bilirubine.

Le choix du thème de ce travail est justifié par les valeurs différentes de la bilirubine totale retrouvées avec les 2 réactifs lors des dosages de la bilirubine totale chez les nouveaux nés au niveau du laboratoire de l'unité « **Hassiba Benbouali** » du CHU de Blida.

PARTIE THEORIQUE

***Chapitre I : Rappel anatomo-
physiologique de l'appareil
hépatobiliaire.***

L'appareil hépato biliaire comprend :

- ↪ Le foie.
- ↪ Les voies biliaires : Intra et Extra hépatiques.

Ils sont solidaires et interdépendants dans la sécrétion et l'excrétion de la bile.

I. Le foie :

Le foie est la plus volumineuse glande annexe du tube digestif. Il est à la fois exocrine et endocrine. Le foie excrète la bile dans l'intestin, la bile participe à l'absorption des lipides. Le foie joue également un rôle fondamental dans le métabolisme du glucose, des lipides et des protéines. *(Delmas. V, et all, 2008)*

I.1. Anatomie du foie :

I.1.1. Localisation :

Il est situé dans la partie droite de l'abdomen, le foie est séparé des poumons et du cœur par le diaphragme. Il est localisé à droite de l'estomac, au dessus du duodénum et de l'angle colique droit. *(Ciaccio.O et Castaing.D ,2015)*



Figure 1: le foie dans le système digestif *(Inca, 2011)*

I.1.2. Caractères physiques :

- **Poids et dimension :** Il présente une extrême variabilité de volume, dimensions et poids. Son poids de **1 400 à 1 500 g** chez le cadavre (environ **1/50^e** du poids corporel) est en fait plus élevé, de l'ordre de **2 300 à 2 500 g**, chez le vivant chez qui il est gorgé de sang.
- **Couleur et consistance :** Il s'agit d'un viscère relativement plastique. Il est lisse, de consistance souple, de coloration brun-rouge, constitué d'un parenchyme friable entouré d'une mince capsule fibreuse, la capsule de Glisson.

(D. Castaing, L.A Veilhan, 2006)

I.1.3. Lobes:

Le foie se divise en quatre lobes inégaux : Le lobe hépatique droit est le plus volumineux, Le lobe hépatique gauche est la partie la plus étroite de l'organe, Entre ces deux lobes majeurs, on distingue « *le lobe carré* » et « *le lobe caudé* ». La vésicule biliaire est attachée au foie à la limite du lobe carré et du lobe hépatique droit.

Le lobe carré et le lobe caudé sont séparés par un sillon appelé le hile du foie. C'est au niveau du hile que la veine porte et l'artère hépatiques pénètrent dans le foie, et que passent les canaux biliaires majeurs (*Ciacio.O et Castaing.D, 2015*).

I.1.4. Vascularisation du foie :

Le foie est vascularisé par la veine porte, large de 15 mm, longue de 8 cm environ, pouvant être abordée aisément dans le pédicule hépatiques. Elle se termine dans la partie droite du hile du foie et se sépare en deux branches, la gauche est destinée au foie gauche, et est plus longue mais moins large que la branche droite volumineuse, qui semble prolonger le tronc et qui est destinée au foie droit. Les veines portes accessoires gagnent le foie en dehors du tronc porte principal (veine du ligament falciforme, veines du ligament rond, veine cystique et veines para-biliaire).

Le foie est vascularisé également par l'artère hépatique née habituellement du tronc cœliaque à la hauteur de L1, qui est dite artère hépatique commune dans son premier segment puis qui donne ensuite l'artère gastroduodénale et l'artère hépatique propre qui chemine à l'avant du tronc porte et à gauche de la voie biliaire. Elle se divise à distance du hile du foie en deux

branches, droite et gauche. En fait, il existe de nombreuses variations des artères hépatiques, ces variations sont importantes à connaître dans le cadre de la chirurgie d'exérèse du foie.

Le sang apporté au foie par l'artère hépatique et la veine porte est drainé par les veines sus-hépatiques qui sont au nombre de trois et qui vont se jeter dans la veine cave inférieure au-dessous de son orifice diaphragmatique. Un réseau de lymphatiques superficiels et profond assure le drainage de la lymphe. (*J.Frexinos, 1991*).

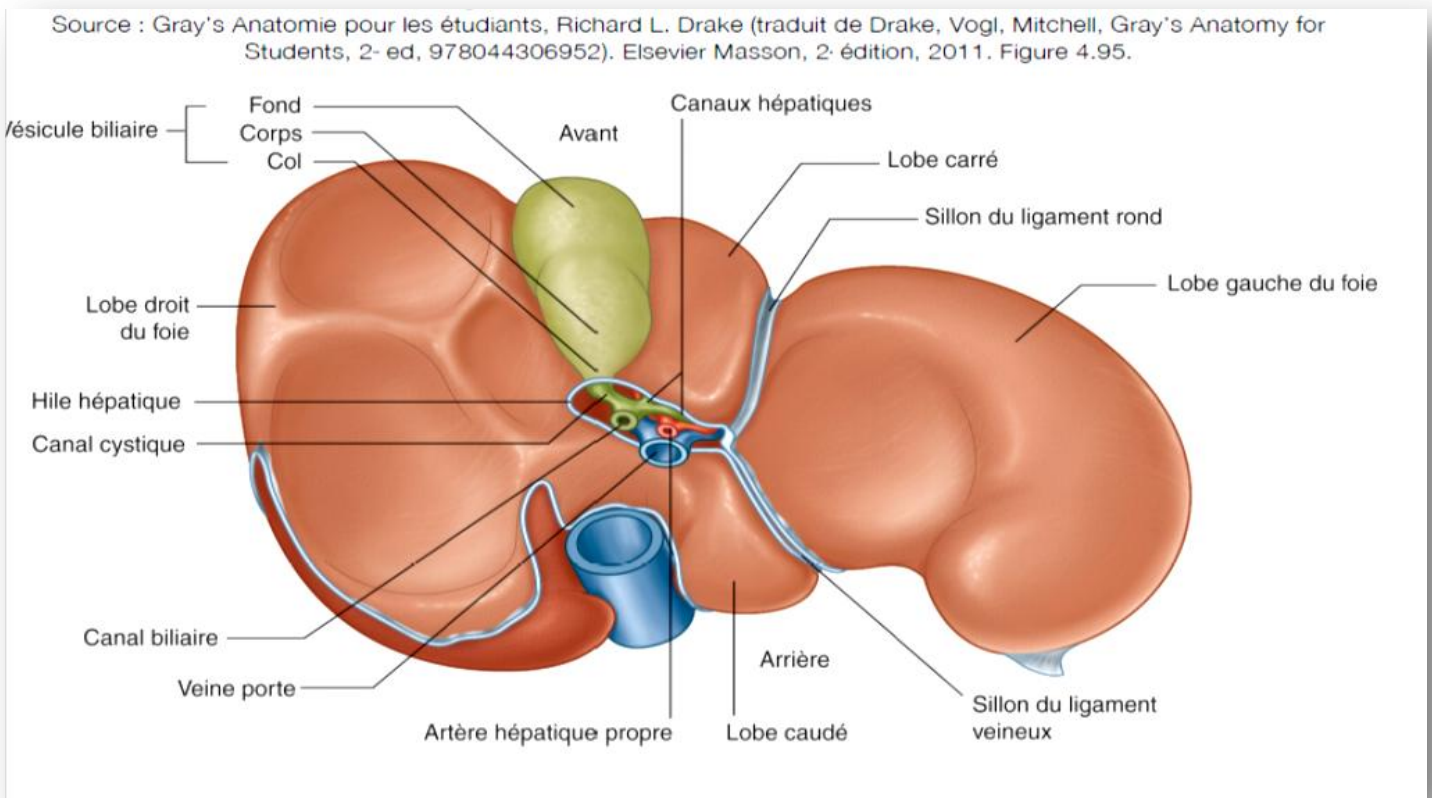


Figure 2 : Faces viscérales du foie (**Richard .L, 2011**)

I.1.5. Histologie du foie :

A. Le lobule hépatique :

Le foie se présente comme un ensemble d'unités hexagonales, mesurant environ 1 mm de diamètre: Les lobules hépatiques. Irrigués par des branches de la veine porte hépatique et des branches de l'artère hépatique, ces lobules sont constitués de cellules spécialisées, les hépatocytes, disposées en rayons autour d'une veine centrale, la veine centrolobulaire. (*Batigne Stéphane et all, 2008*)

B. Les cellules hépatiques :

Malgré la diversité et la complexité des activités du foie, il est surprenant que la grande majorité d'entre eux sont assurées par une seule variété de cellules spécialisées dans le foie : C'est l'hépatocyte. (*Sherwood, 2006*)

B.1. Cellules parenchymateuses ou hépatocytes :

Les hépatocytes sont des cellules épithéliales polarisées, la membrane plasmique présente des caractéristiques différentes au pôle apical (le pôle biliaire) dirigé vers le milieu extérieur et au pôle basolatéral en relation avec le milieu intérieur. Les jonctions serrées qui entourent les canalicules biliaires limitent deux domaines principaux, les domaines basolatéral et apical. Toutefois, certains auteurs subdivisent le domaine basolatéral de la membrane plasmique de l'hépatocyte en un domaine basal, appelé domaine sinusoidal car en regard de la capillaire sinusoidale, et en un domaine latéral faisant face à l'hépatocyte voisin. Le domaine sinusoidal représente les deux tiers de la membrane plasmique, tandis que les deux autres domaines se partagent à peu près également le tiers restant. L'intégrité de la membrane plasmique et le maintien de trois domaines correctement individualisés sont indispensables pour assurer les fonctions normales des hépatocytes, leurs échanges avec le milieu environnant, leurs interactions avec la matrice extracellulaire ou leurs relations avec les autres cellules. (*Feldmann Gérard et al, 1997*)

B.2. Cellules endothéliales :

Ces cellules impliquées dans la modulation de la prolifération hépatocytaire bordent les sinusoides et présentent la particularité d'être fenêtrées et dépourvues de membrane basale, ce qui favorise les échanges entre les hépatocytes sous-jacents à la barrière endothéliale et les hépatocytes. (*Malik R., Selden C., Hodgson H, 2002*)

B.3. Cellules de Kupffer :

Localisées dans la lumière des sinusoides, ces cellules sont en contact, grâce à leurs prolongements, avec des cellules endothéliales et des hépatocytes. Ce sont des cellules littorales de type macrophage hépatique qui vont intervenir lors des réactions immunitaires et au cours des processus de sécrétion de cytokines, de facteurs de croissance, et d'inhibiteurs de la réplication. (*Malik R., Selden C., Hodgson H, 2002*)

B.4. Cellules étoilées ou d'Ito :

Juxtaposées dans l'espace de Disse entre les hépatocytes et les sinusoides hépatiques, ces cellules stockent de nombreux globules lipidiques riches en vitamine A. Elles jouent un rôle majeur dans le développement de fibroses hépatiques et sont généralement impliquées dans la régulation de la croissance hépatique (Remaniement de la matrice extra cellulaire, synthèse de facteurs de croissance, et production de cytokine). (*Malik R., Selden C., Hodgson H, 2002*)

B.5. Cellules «Natural killer» (ou pit-cell) :

Se sont des lymphocytes intra hépatiques donc résidents, visibles dans la lumière des capillaires sinusoidaux. Ils interviennent au cours du mécanisme de défense immunitaire. (*Malik R., Selden C., Hodgson H, 2002*)

B.6. Les fibroblastes :

Les fibroblastes ne sont pas des cellules spécialisées du foie; ils possèdent un rôle structural et architectural très important avec tous les composants de la matrice extra cellulaire, intervenant également dans le remodelage et la plasticité du foie en tant qu'organe. (*Malik R., Selden C., Hodgson H, 2002*)

Malgré son apparente homogénéité histologique, le foie est en réalité un organe hétérogène sur le plan fonctionnel. La régionalisation de ses activités métaboliques est liée à des différences d'équipement enzymatique selon la position de l'hépatocyte dans le lobule et du gradient de concentration d'oxygène et des substances apportées par le sang dans ces cellules polarisées par rapport au flux sanguin. (*M. Maitre, J.-F. Blicklé, 2008*)

I.2. Principales fonction du foie :

Le foie occupe de nombreuses fonctions métaboliques. Il est, entre autres, un intermédiaire obligé pour presque toutes les substances provenant de l'intestin et est également capable de détoxifier de nombreuses substances étrangères ainsi que des produits terminaux du métabolisme et d'assurer leur élimination. (*S.Silbernagl et Florian Lang, 2000*).

I.2.1. Métabolismes hépatiques :

Véritable laboratoire biochimique, le foie participe à plus de 500 réactions chimiques différentes grâce à la grande quantité du sang qui lui draine (1,5 litre de sang chaque minute) et la grande variabilité des enzymes qu'il contient. (*Batigne Stéphane et all, 2008*)

a) métabolisme des glucides :

Le maintien de l'homéostasie glucidique dépend d'une part de l'aptitude du tissu hépatique à stocker le glucose sous la forme d'un polymère, le glycogène, susceptible de redonner du glucose à distance des apports alimentaires. D'autre part, le foie possède la capacité de synthétiser du glucose à partir d'un vaste panel de substances provenant de la digestion ou d'autres métabolismes (néoglucogenèse), permettant de pallier les capacités limitées de stockage du glycogène au cours du jeûne nocturne ou prolongé. (*M. Maitre, J.-F. Blicklé, 2008*)

b) métabolisme des acides aminés et des protéines :

Arrivant au foie, Les acides aminés, qui peuvent avoir une origine digestive ou provenir de la mobilisation des protéines corporelles (*Heitmann et Bergman, 1980*), subissent soit une dégradation et perdent leur fonction aminée qui est transformée en urée dans le cycle de Krebs Heenseleit (le foie étant le lieu exclusif de détoxification de l'ammoniac et de formation de l'urée), soit une synthèse les transformant en protéines de structures , en protéines plasmatique , lipoprotéine , transferrine , céruloplasmine ou en facteurs de la coagulation. (*J.Frexinos , 1991*).

c) Métabolisme des lipides :

Durant le jeûne, le foie utilise la dégradation oxydative des acides gras comme source d'énergie pour la néoglucogenèse. Même si la majeure partie des besoins en acides gras sont satisfaits par les apports alimentaires, la synthèse de novo des acides gras à partir d'acétyl-CoA (lipogenèse) existe dans Le foie, lorsqu'il y a apport important de carbohydrates et excès énergétique, une néo-synthèse d'acides gras se produit avec stockage des triglycérides formés dans le tissu adipeux. (*M. Maitre, J.-F. Blicklé, 2008*). Le cholestérol peut être également synthétisé à partir de l'acétyl- CoA et cette synthèse représente **800 mg/jour**. Ce cholestérol sera utilisé pour la synthèse des sels biliaires, incorporé dans les lipoprotéines HDL ou VLDL ou éliminé directement dans la bile. (*Audigié Claude et Zonszain François, 1995*).

1.2.2. Traitement des déchets organiques :

Le foie assure la détoxification et l'excrétion de nombreuses substances principalement lipophiles issues du métabolisme (par ex bilirubine ou hormones stéroïdes) ou bien absorbées à partir de l'intestin (par exemple les médicaments). Ceci nécessite une biotransformation dans un premier temps : Des groupements réactifs OH, NH₂ ou COOH sont rattachés aux substances hydrophobes par voie enzymatique (notamment mono-oxygénase), ce qui permet, dans une seconde étape la conjugaison de ces substances.

Ces produits de conjugaison, solubles dans l'eau sont dégradés ultérieurement dans les reins et éliminés dans les urine ou bien sont sécrétés dans la bile par les hépatocytes, pour être éliminés par la suite dans les fèces. (*S.Silbernagl et A.Dispopoulos, 2001*)

1.2.3. Stockage :

Les substances mises en réserve dans le foie comprennent, en plus du glycogène et des substances protéiques et lipidiques, les vitamines liposolubles A, D, E, K ; du fer, du cuivre et certaines vitamines hydrosolubles, par exemple la vitamine B12. (*Waugh Anne et Grant Allison, 2015*)

1.2.4. La formation de la bile et son excrétion :

La bile est la sécrétion exocrine du foie. C'est une substance liquide, visqueuse, jaune-verdâtre, de saveur amère, à réaction alcaline et de densité variable (de **1,026** à **1,302**). (*Jacques Quevauvilliers, 2009*). L'organisme synthétise quotidiennement environ **0.7 l/j** de bile. (*S.Silbernagl et A.Dispopoulos, 2001*).

a) Formation de la bile :

Les hépatocytes possèdent dans leur membrane sinusoïdale et canaliculaire de nombreux transporteurs qui, respectivement, absorbent les constituants de la bile à partir du sang et les transfèrent dans les canalicules. La bile est sécrétée directement des cellules hépatiques dans les canalicules biliaires.

La bile est produite de façon continue et elle parvient dans la vésicule biliaire où elle est concentrée jusqu'à **1/10** et stockée si le sphincter entre le canal cholédoque et le duodénum est fermé. Lorsque l'organisme a besoin de la bile pour la digestion des lipides, la vésicule biliaire se contracte et elle déverse son contenu dans le duodénum.

b) Composition de la bile :

Les constituants de la bile sont, outre l'eau et les électrolytes, les sels des acides biliaires, la bilirubine, du cholestérol, de la lécithine (phosphatidylcholine), des hormones stéroïdes, des médicaments, etc. Les sels biliaires interviennent dans la digestion des lipides, alors que la plupart des autres constituants de la bile sont éliminés de l'organisme avec les fèces.

(S.Silbernagl et A.Dispopoulos, 2001).

II. Les voies biliaires :

II.1 Anatomie des voies biliaires :

La bile sécrétée au pôle biliaire de l'hépatocyte va parcourir un réseau canalaire complexe comportant :

II.1.1. Voies biliaires intra-hépatique :

- a) *Des canalicules biliaires* : Qui n'ont pas de paroi propre mais sont formés par l'opposition des deux pôles biliaires des hépatocytes adjacents. Leur diamètre est de **1** micromètre. Ces canalicules comportent de très nombreuses microvillosités et leurs surface de sécrétion est estimée à environ **7000 cm²** par **100g** de cellules hépatiques ce qui correspond à **10 m²** pour le foie humain.
- b) *Les ductules biliaires* : relient les réseaux canalaire inter-hépatocyttaire au réseau canalaire portal intra-hépatique
- c) *Les canaux biliaires des espaces porte ou canaux inter-lobulaire* : Possèdent une paroi propre comportant des cellules épithéliales cubique reposant sur une membrane basale.
- d) *Les canaux biliaires septaux* : Sont formés par la réunion de plusieurs canaux inter lobulaires.
- e) *La voie biliaire principale* : Nait de la fusion dans le hile des canaux hépatique droit et gauche. Elle descend dans le pédicule hépatique jusqu'au niveau de la tête du pancréas où elle s'abouche avec la terminaison du canal de Wirsung pour former l'ampoule de Vater.

(J.Frexinos, 1991).

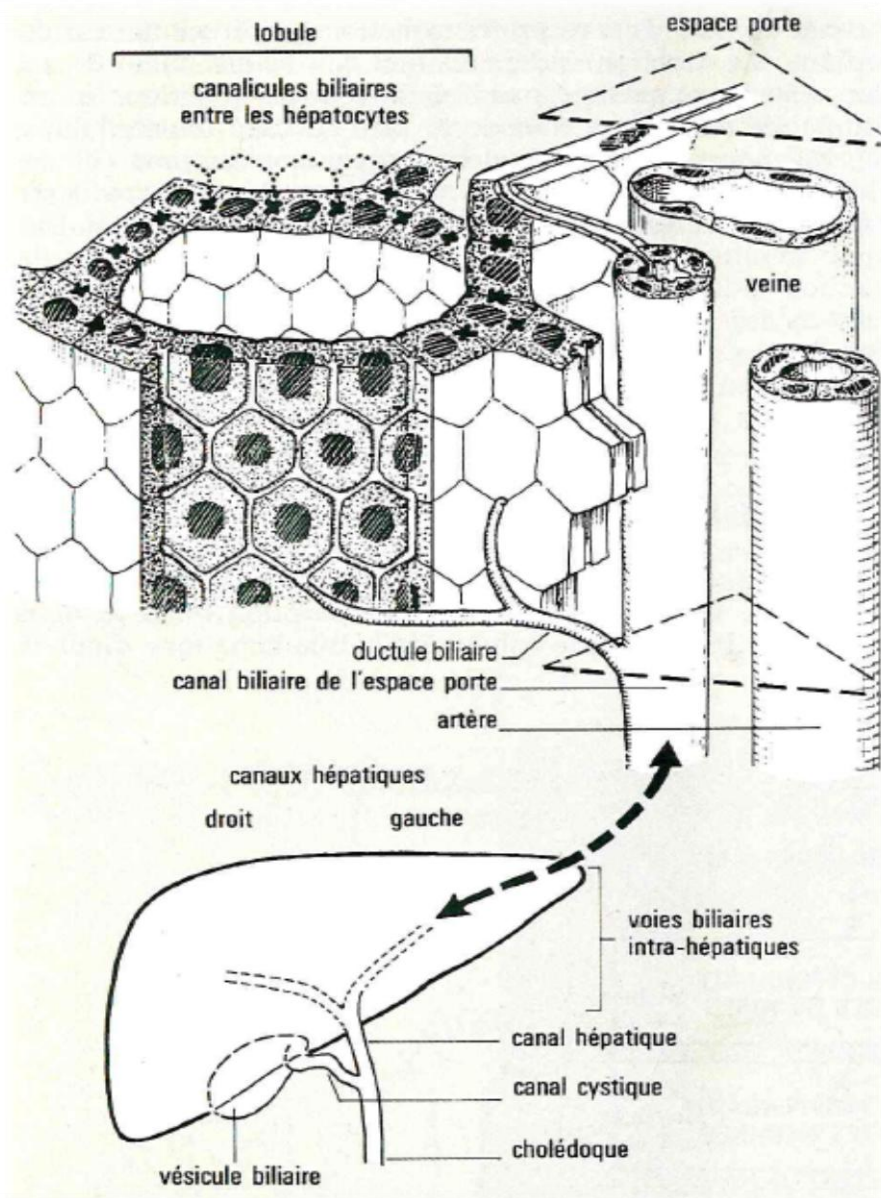


Figure 3 : Disposition anatomique et nomenclature des voies biliaires (*J.Frexinos, 1991*).

II.1.2. Voies biliaires extra -hépatiques (voies biliaires accessoires) :

a. Réservoir (vésicule biliaire) :

Elle se présente comme une poche piriforme dont la capacité varie de **40 à 100 ml** environ, elle est reliée au canal cystique par un col de **2 cm** environ de long. Sa paroi propre est composée d'une couche muqueuse présentant de nombreuses villosités comportant un épithélium formé de cellules cylindriques avec, à leur pole apical, des microvillosités(*J.Frexinos1991*).

b. Des conduits (canaux) :*b.1. Conduit ou canal cholédoque :*

C'est un canal qui part du foie et qui descend vers les intestins où il déverse la bile. Il provient de la réunion du canal hépatique venu du foie et du canal cystique venu de la vésicule biliaire. Il est fermé au niveau de son extrémité inférieure par le sphincter d'oddi qui permet que la bile ne soit déversée dans le duodénum que de façon synchrone avec les repas. (*Lebau.J, 2010*)

b.2. Canal cystique :

Dans le canal cystique, la membrane muqueuse bourdante présente des plis circulaires irréguliers, jouant le rôle de valve spirale. Elle s'attache par son extrémité supérieure à la vésicule biliaire et par son extrémité inférieure au canal cholédoque pour former le conduit hépatique commun. La bile traverse le canal cystique dans deux sens, une fois vers la vésicule biliaire puis à nouveau, quand elle est expulsée, de la vésicule biliaire vers le conduit hépatique commun et de là dans le duodénum. . (*Waugh Anne et Grant Allison, 2015*)

II.2 : Les fonctions des voies biliaires :

Le rôle des voies biliaires est important dans l'élaboration de la bile. Des phénomènes de réabsorption ont lieu dans la vésicule biliaire où le volume de la bile hépatique diminue d'environ **90%**. Cette réabsorption se fait par un mécanisme actif pour l'eau et les électrolytes, mais elle ne modifie pas l'osmolarité de la bile vésiculaire qui reste isotonique au plasma. Des phénomènes de sécrétion au niveau des voies biliaires ont été mis en évidence en étudiant le rôle de la sécrétine qui augmente le débit biliaire de l'eau et des bicarbonates sans augmentation des débits des sels biliaires. Son lieu se situe au niveau des cellules canaliculaires. (*J.Frexinos1991*).



Chapitre II : La Bilirubine

I. Définition :

La bilirubine est un Pigment biliaire rouge présent sous forme de bilirubinate sodique dans la bile et sous forme de bilirubinate calcique dans la vésicule biliaire. On peut le trouver dans l'urine et dans les tissus en cas d'ictère. Il se forme par dégradation de l'hémoglobine des globules rouges dans les cellules réticulo-endothéliales. La bilirubine est transportée dans le sang sous forme insoluble dans l'eau, liée à l'albumine : c'est la bilirubine libre ou indirecte. Dans le foie, elle est conjuguée à l'acide glycuronique : c'est la bilirubine conjuguée ou directe, pouvant être excrétée par la bile (*Jacques Quevauvilliers, 2009*).

II. Les différentes formes de la bilirubine :

La bilirubine existe sous deux formes principales, une conjuguée à l'acide glucuronique et une forme non-conjuguée, qui est liée à l'albumine dans le plasma. Toutes ces formes peuvent augmenter dans diverses pathologies, conjointement ou non, Les bilirubines sont généralement dosées par la méthode colorimétrique dont la plus commune est celle de Jendrassik-Groft dont il existe de nombreuses adaptations. La bilirubine conjuguée réagit directement avec le réactif de diazotation pour donner l'azobilirubines : On l'appelle ainsi « *Bilirubine directe* », tandis que la *Bilirubine totale* est dosée après action d'un réactif tensioactif, du méthanol ou du DMSO (Diméthylsulfoxyde), qui libère la bilirubine et permet de doser la bilirubine totale (*Bruno Baudin, 2017*), on a alors :

$$\text{Bilirubine totale} = \text{Bilirubine directe (conjuguée)} + \text{Bilirubine indirecte (libre)}$$

Bilirubine Delta (biliprotéine) : Il peut également exister dans le plasma une fraction de bilirubine qu'on appelle la **Bilirubine delta** ou « *biliprotéine* ». Elle est unie à l'albumine par des liens covalents, avec qui elle partage la même demi-vie d'environ **19** jours. La réaction avec l'albumine, de nature non enzymatique, a lieu uniquement avec la bilirubine conjuguée.

La bilirubine delta réagit dans les méthodes colorimétriques comme la bilirubine conjuguée et son taux est parallèle à celui de la bilirubine conjuguée. En raison de sa liaison avec l'albumine, la bilirubine delta n'apparaît pas dans les urines. (*Denis D, 1994*).

III. Structure et propriétés physico-chimique :

III.1. Structure :

La bilirubine a été identifiée par Stadeler en **1864**. Fischer établit en **1942** :

- **La Formule brute** : $C_{33}H_{36}N_4O_6$
- **Le Poids moléculaire** : 584.7 g/mol
- **La dénomination chimique internationale est** : l'acide-dioxo-1, 3, 6,7-tétraméthyl 1-2-8, divinylbiladiène-a.c dipropionique.
- **La Solubilité** : La bilirubine Z-Z cristallisés très soluble dans le chloroforme, le pyrrole, la pyridine, le Diméthylsulfoxyde.

Les carbones du squelette sont numérotés de **1** à **19**, les azotes de **21** à **24**. Les pyrroles sont identifiés par des lettres de A à D. Le carbone **1** et l'azote **21** appartiennent au pyrrole A. Le carbone **20** qui a disparu de la numérotation des bilans a été éliminé sous formes de monoxyde de carbone lors de la dégradation oxydative de l'hème. Les ponts inter-pyrroliques sont souvent désignés par les lettres **a**, **b**, **c**. Ils correspondent aux carbones **5.10**.et **15**.

(Trivin. F, 1998).

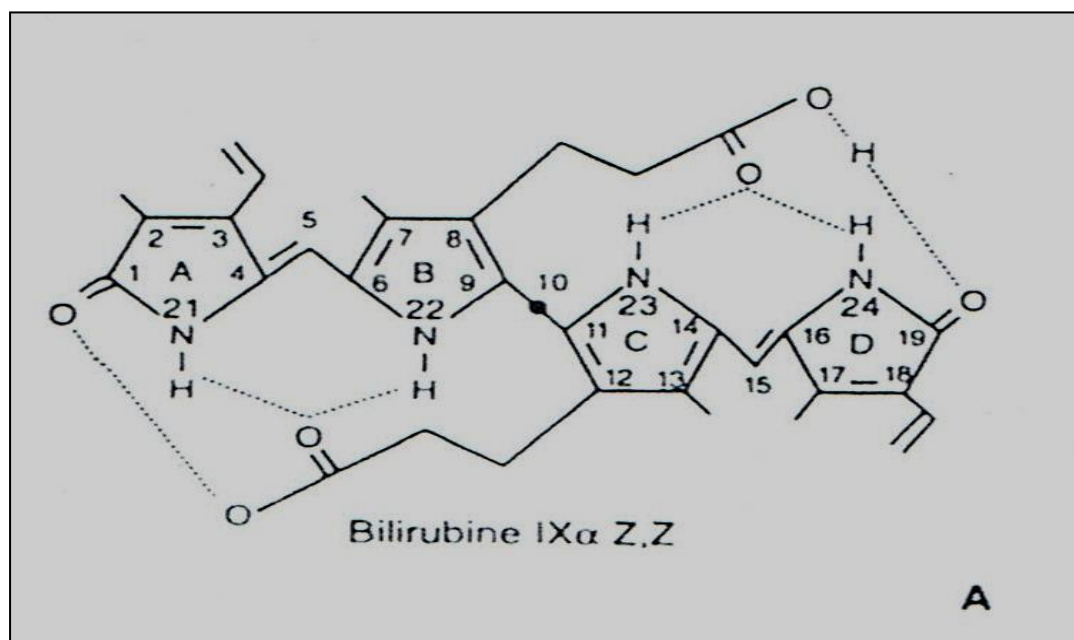


Figure4 : structure de la bilirubine (Trivin F, 1998)

III.2. Propriétés physico-chimiques :

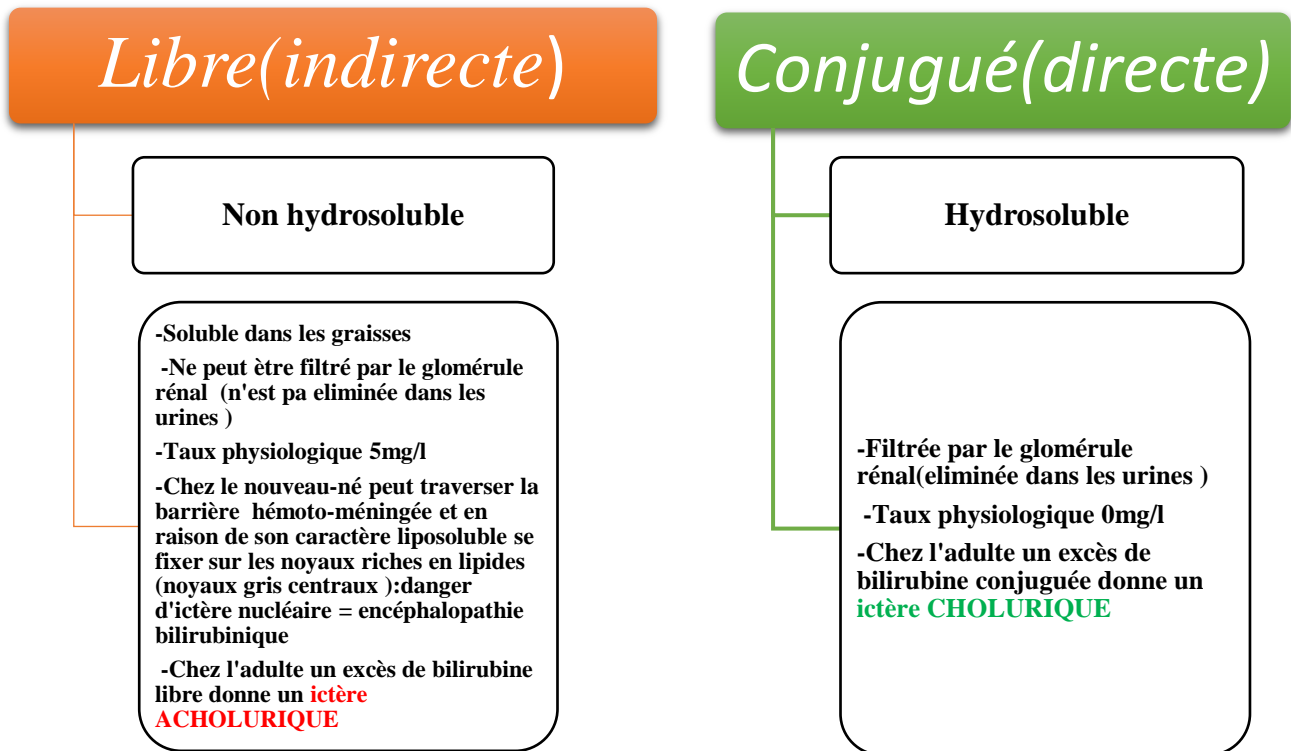


Figure 5 : Les caractères physico-chimiques et les propriétés physiologiques des 2 formes de Bilirubine (J.Frexinos ,1991).

IV. Origine de la bilirubine :

La bilirubine est un pigment tétra-pyrrolique qui provient pour 80 à 85% du catabolisme de l'hémoglobine des hématies sénescents, ces hématies étant détruites par le système des macrophages mononucléés. La destruction quotidienne de **1/100** des hématies totales circulants dans l'organisme aboutit à la libération de **6.25g** d'hémoglobine et à la production de **300 à 325 mg** de bilirubine non conjugué (B.N.C). cette bilirubine tardive est donc produite **120** jours après marquée par la glycine 15N. La bilirubine précoce représente 15 à 20 % de la bilirubine totale.

Elle est produite dans les 5 premiers jours qui surviennent l'injection de la glycine 15 N. Elle provient de 2 sources différentes :

1. *L'érythropoïèse non efficace* : Qui représente 15 à 20% de cette bilirubine (destructions dans les moelles osseuses d'érythroblastes ou synthèse médullaire de l'hémoglobine trop élevée par rapport à l'incorporation dans les hématies).
2. *Les sources extra-érythropoïétiques* (5%) représentées essentiellement par le parenchyme hépatiques qui peut synthétiser de la bilirubine à partir des porphyrines non hémoglobiniques (cytochromes, catalases, myoglobine).

(J.Frexinos.1991).

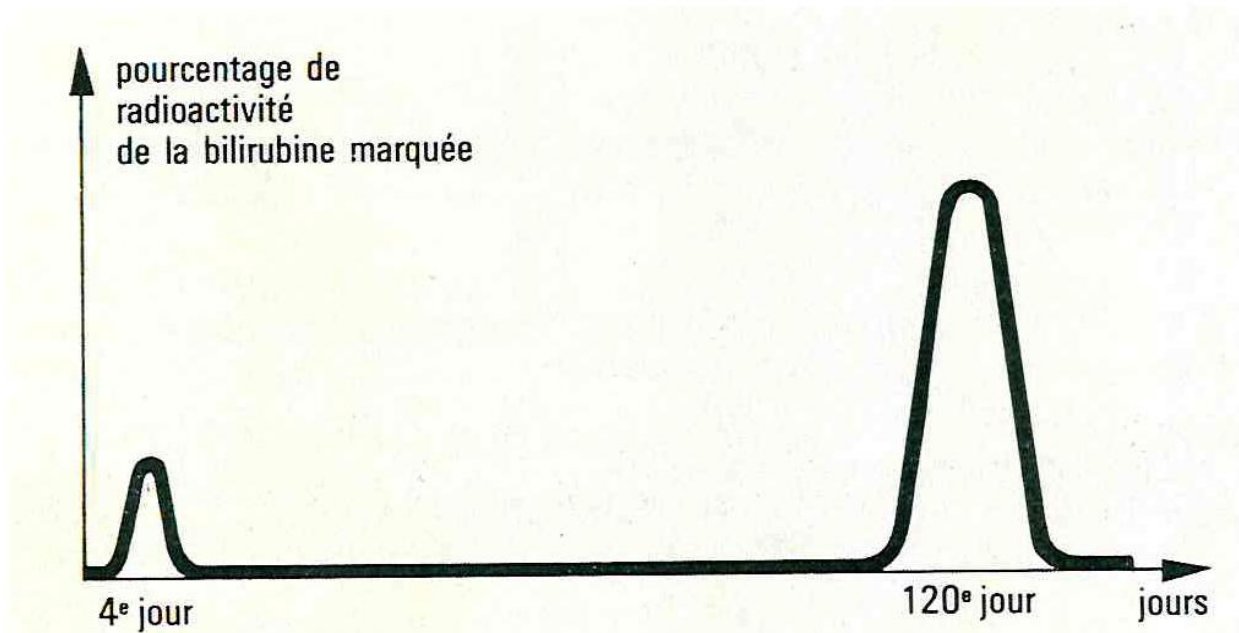


Figure 6: Bilirubine précoce et bilirubine tardive.

L'injection intra-veineuse d'un précurseur de l'hème (glycine marquée) permet de suivre son incorporation dans les pigments biliaires et la radioactivité de la bilirubine sérique. Dans ces conditions, on obtient chez les sujets normaux un pic précoce représentant environ 15 à 20 % de la bilirubine formée et dont le maximum se situe vers le 4^e à 5^e jour. Il correspond à la bilirubine synthétisée dans le foie à partir de divers précurseurs hémiques et surtout à la bilirubine produite dans la moelle osseuse par destruction des érythroblastes.

Le deuxième pic le plus important correspond à la destruction des hématies ayant incorporé la glycine marquée dans leur hémoglobine après l'injection. Il se situe environ 120 jours, il correspond à la durée de vie des hématies et à leur destruction par le système réticulo-endothélial.

(J.Frexinos.1991).

V. Formation de la bilirubine :

Le catabolisme de l'hème de toutes les hémoprotéine s'effectuerait dans les fractions microsomale des cellules par un système enzymatique complexe appelé *hème oxygénase*. Il passe par plusieurs étapes pour donner finalement la bilirubine :

- ↪ L'hème des hémoprotéines atteint l'hème oxygénase sous forme de ferrine dont le fer est déjà oxydé sous forme ferrique.
- ↪ L'hémine est réduite en hème par l'intermédiaire du NADPH.
- ↪ Grâce a une autre molécule de NADPH, l'oxygène est rajouté au pont α -méthényle entre les noyaux pyrroles I e II de la porphyrine et le fer ferreux est ré-oxydé en fer ferrique.
- ↪ L'addition d'oxygène supplémentaire libère l'ion ferrique (Fe^{3+}) et produit du monoxyde de carbone (CO)
- ↪ La libération de l'ion ferrique provoque l'ouverture du noyau tétra pyrrolique ce qui conduit à la formation de biliverdine par une quantité équimolaire que l'hème.
- ↪ Chez les mammifères, une enzyme soluble appelée Biliverdine réductase réduit le pont méthényle entre les noyaux pyrroles 3 et 4 en un groupement méthényle pour produire un pigment jaune : « **BILIRUBINE** ».

(Robert k.Murray, 2008).

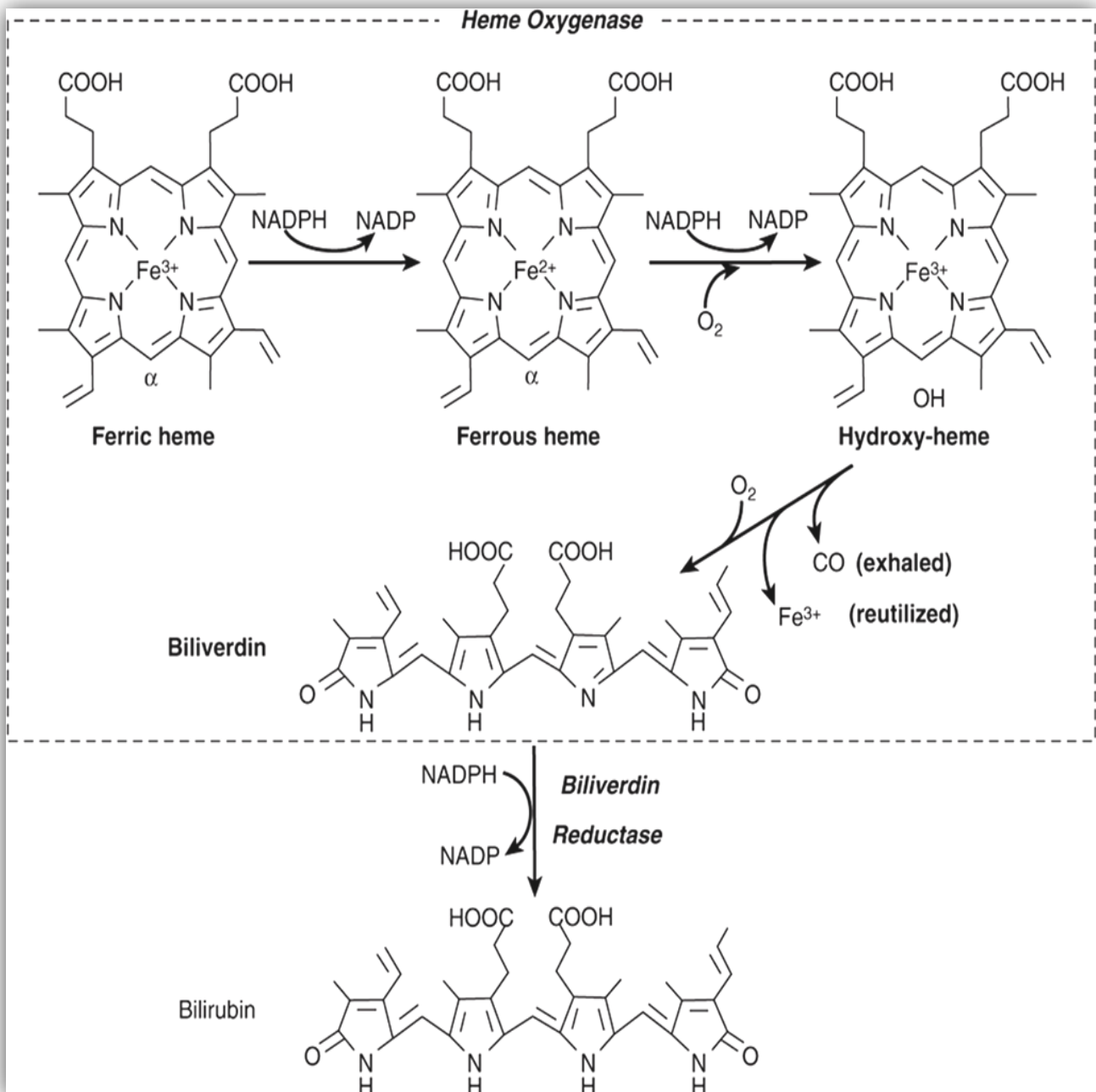


Figure 7 : Schéma représentant les différentes étapes de la formation de la bilirubine .

VI. *Transport plasmatique :*

L'albumine représente le transporteur essentiel de la bilirubine non conjugué qui est insoluble dans l'eau. Une molécule d'albumine fixe 2 molécules de B.N.C, mais ce pouvoir de liaison peut être altéré par divers facteurs exogènes ou endogènes. Parmi les facteurs exogènes, il faut citer l'acide acétylsalicylique, la caféine, le diazépam, la digoxine, le furosémide, la diphénylhydantoïne, l'oxacilline et des sulfamides antibactériens. Les facteurs endogènes sont essentiellement l'acidose respiratoire et métaboliques, les acides gras non estérifiés et certaines hormones.

La rupture de la liaison albumine-B.N.C aboutit à la libération de la B.N.C et à sa diffusion dans les tissus avec, en particulier, risque d'ictère nucléaire. (*J.Frexinos, 1991*).

VII. **Métabolisme physiologique de la bilirubine :**

Le métabolisme ultérieur de la bilirubine se déroule principalement dans le foie. Il peut être divisé en 4 étapes :

- ↳ *Captation par l'hépatocyte* : entrée de la bilirubine dans les cellules parenchymateuses hépatiques
- ↳ *Conjugaison de la bilirubine* : conjugaison de la bilirubine au glucuronides dans le réticulum endoplasmique.
- ↳ *Transport hépatocyttaire et excrétion* : Sécrétion de la bilirubine conjuguée dans la bile
- ↳ *Élimination intestinale et urinaire.*

(*J.Frexinos.1991*).

VII.1. **Captation par les hépatocytes**

Dans le foie, la bilirubine est détachée de l'albumine et elle est absorbée au niveau sinusoidal des hépatocytes par un système de transport saturable. Ce système de transport facilité à une très grande capacité, de sorte que, même dans les conditions pathologiques, il ne semble pas constituer l'étape limitante du métabolisme de la bilirubine.

Comme ce système de transport facilité permet de maintenir l'équilibre de la bilirubine à travers la membrane sinusoïdale des hépatocytes, l'importation nette de bilirubine va dépendre de son élimination par des voies métaboliques ultérieures.

Après son entrée dans les hépatocytes, la bilirubine peut se fixer à certaines protéines cytoplasmiques, qui aident à son maintien en solution avant sa conjugaison. Les protéines impliquées sont : La ligandine (un membre de la famille des glutathion S-transférase) et la protéine Y. Elles peuvent aussi servir à éviter l'efflux réverse de la bilirubine vers la circulation sanguine. (*Robert k.Murray, 2008*).

N.B : La ligandine est faiblement synthétisée au cours de la vie fœtale, sa synthèse augmente au cours des premiers jours de vie, elle est inductible par le phénobarbital. (*Taeush WH, Ballard RA, Avery ME, 1991*).

VII.2. Conjugaison de la bilirubine :

Le but de cette étape est de transformer la B.N.C non hydrosoluble en B.C soluble dans l'eau et pouvant être excrétée par la bile. Cette étape se situe au niveau du réticulum endoplasmique des hépatocytes essentiellement, mais aussi accessoirement au niveau des parenchymes rénal et de l'intestin. (*J.Frexinos, 1991*).

Les hépatocytes convertissent la bilirubine en une molécule polaire, qui est facilement excrétée dans la bile par l'addition de molécule d'acide glucuronique. Ce processus est appelé conjugaison (85% de la bilirubine est glucuroconjugée) et il peut utiliser d'autres molécules polaires que l'acide glucuronique par exemple : Le sulfate (15% de la bilirubine est sulfoconjugée). De même, un nombre d'hormones stéroïdes et médicaments sont transformés par conjugaison en dérivés hydrosoluble afin d'être excrétés. (*Robert k.Murray, 2008*).

La conjugaison de la bilirubine est catalysée par une **glucuronyltransférase** spécifique. Cette enzyme est principalement localisée dans le réticulum endoplasmique lisse, elle utilise l'acide UDP-glycuronique comme donneur de groupements glucuronosyles et est appelée bilirubine-UGT. Le monoglucuronide de bilirubine est intermédiaire qui ensuite converti en diglucuronide. Chez les mammifères, la plus grande partie de la bilirubine est excrétée dans la bile sous forme de diglucuronide de bilirubine. (*Robert k.Murray, 2008*).

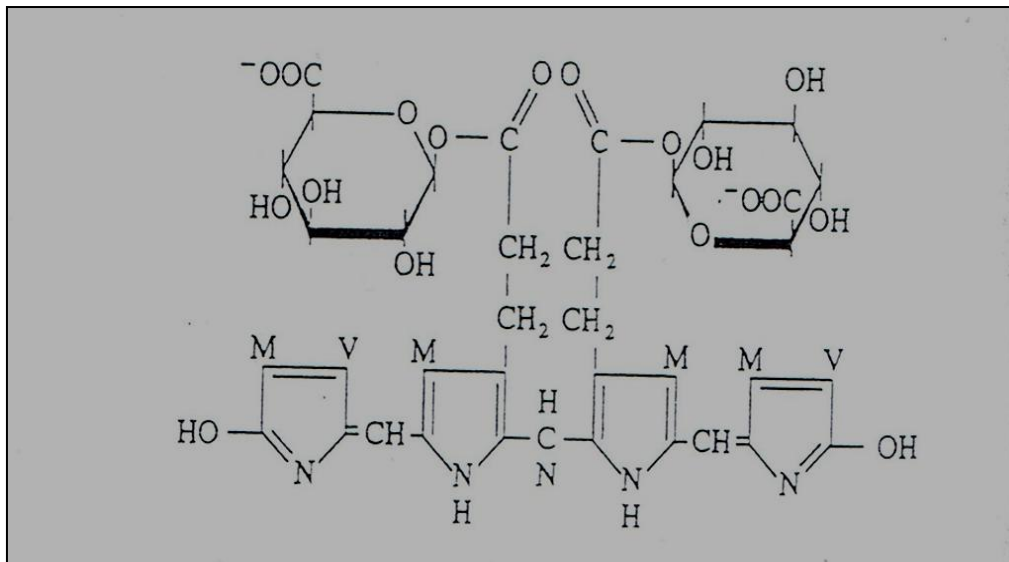


Figure 8: structure du diglucuronide de la bilirubine (*Denis doré, 1994*)

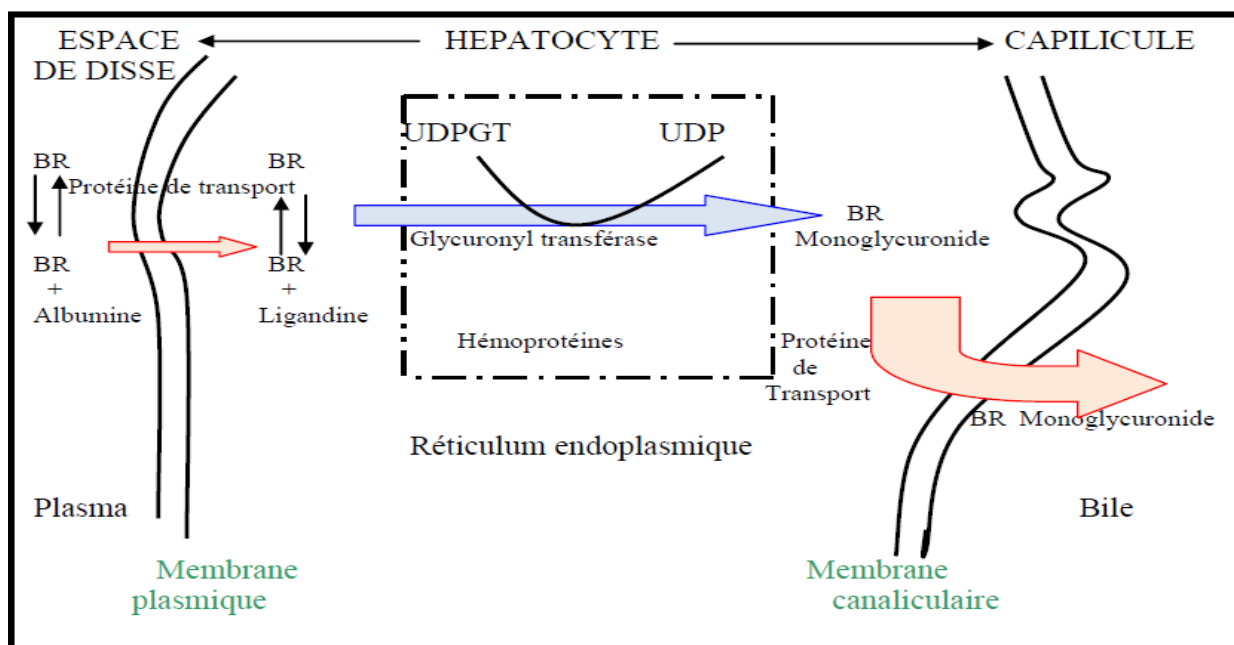


Figure 9: Métabolisme hépatique de la bilirubine (*Schmid, 1978*)

👉 Chez le nouveau-né :

Pendant la période fœtale, entre 17 et 30 SA, l'activité de l'UDPGT au niveau du foie est seulement à 0,1% des valeurs de l'adulte et cette activité augmente à 1% entre 30 et 40 SA. D'où l'utilisation du passage transplacentaire comme voie prédominante de l'élimination de la bilirubine. A la naissance, l'activité de l'UDPGT s'accroît au cours des premières semaines de vie pour atteindre une activité identique à celle de l'adulte entre 6 et 14 semaines d'âge post-natal. (*MacDonald MG, Seshia MMK, Mullet MD: 2005*).

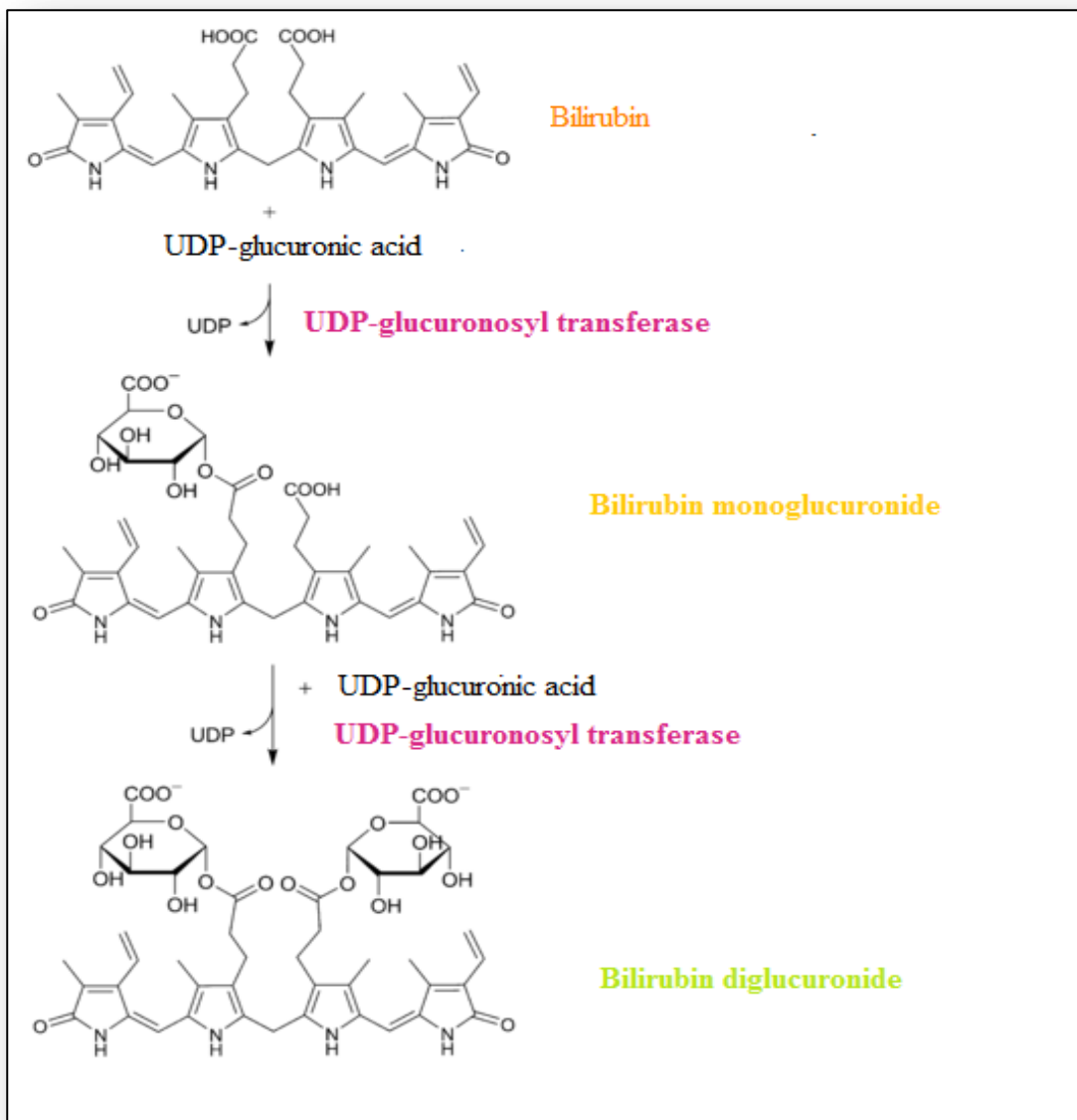


Figure 10 : Mécanisme de la conjugaison intra-hépatique de la bilirubine

VII.3. Transport hépatocytaire et excrétion :

Après avoir été conjugué, la bilirubine gagne le pôle biliaire de l'hépatocyte et va être excrétée dans la bile.

La sécrétion de la bilirubine conjuguée dans la bile s'effectue par un mécanisme de transport actif qui est probablement l'étape limitant de tout le métabolisme hépatique de la bilirubine. La protéine impliquée est le transporteur MRP2 « multidrug resistance like protein 2 », aussi appelé transporteur d'anions organiques multispécifique (MOAT). Il se situe dans la membrane plasmique de la membrane des canalicules biliaires où il assure le transport de différents anions

organiques, il appartient à la classe des transporteurs à cassette de fixation à l'ATP(ABC). Le transport hépatique de la bilirubine est inductible par les médicaments qui sont capables d'induire la conjugaison de la bilirubine. Ainsi, les systèmes de conjugaison et d'excrétion de la bilirubine agissent comme une unité fonctionnelle coordonnée. (*Robert k .Murray, 2008*).

VII.4. Elimination intestinale et urinaire :

Quand la bilirubine conjuguée atteint l'iléon terminale et le colon, les glucuronides sont dégradés par les enzymes bactériennes spécifiques « β -glucuronidase » et le pigment est ensuite réduit par la flore fécale en un groupe de composés tétra-pyrroliques incolores, les urobilinogènes. (*Robert k .Murray, 2008*).

Normalement la plus grande partie de l'urobilinogène est excrétés par les selles sous la forme stercobilines. Les 10 à 15%(soit 60 à 75 mg par jour) sont absorbé par la circulation porte et excrétés dans la bile (cycle entéro-hépatique). Une petite quantité d'urobilinogène absorbée peut être également véhiculée par la circulation systémique et excrétée dans les urines sous la forme d'urobiline en très petite quantité (0.5 à 33 mg/24h). Les selles contenant 4 à 250 mg de stercobilines par jour. (*J.Frexinos, 199*).

VIII. Effets de la bilirubine dans l'organisme :

VIII.1. Effet antioxydant de la bilirubine :

Malgré sa potentielle de toxicité, la bilirubine peut avoir un rôle physiologique important et bénéfique: en effet, au cours d'un stress oxydatif dans un contexte d'infection, d'hypoxie ou d'ischémie, l'environnement cellulaire est exposé à une importante concentration de radicaux libres qui sont captés par la bilirubine, celle-ci s'oxyde et se transforme en biliverdine. (*Hasan Özkan et al, 2008*)(*McDonagh AF,1990*).

Chez le nouveau-né, il semble qu'il existe une relation positive entre le taux de bilirubinémie et l'activité antioxydante (*Jahrig D et al ,1989*) (*Widness JA et al ,1981*).

La bilirubinémie de nouveau-nés malades atteints d'insuffisance cardiaque ou de sepsis est plus basse que celle des enfants sains. (*Hasan Özkan et al ,2008*), suggérant qu'une partie de la bilirubine est consommée pour faire face au stress oxydatif. (*Berk MA et al, 1989*). .

VIII.2.Effet neurotoxique de la bilirubine « l'ictère nucléaire » :

La toxicité neurologique de la bilirubine, substance potentiellement mortelle, est décrite depuis la fin du XIX^{ème} siècle.

En situation physiologique, il existe un taux de bilirubine intracellulaire bas, mais en cas d'augmentation de sa biodisponibilité, la bilirubine exerce sa toxicité en altérant certaines fonctions vitales de la cellule aboutissant à une apoptose ou une nécrose cellulaire.

Elle est à l'origine d'une altération de la régulation des flux calciques qui provoquent un œdème cellulaire et une accumulation intracellulaire de calcium, mais aussi de sodium et de chlore ce qui peut déclencher les mécanismes d'apoptose ou provoquer une nécrose cellulaire. (*Hascoët JM, 2005*)

a. Mécanismes d'entrée de la bilirubine dans le cerveau :

Lors d'une HB, la bilirubine diffuse dans le cerveau mais sa concentration dans le LCR et au niveau des cellules cérébrales sont limitée par un retour actif de la bilirubine vers le plasma grâce à des protéines spécifiques de transport. Ces mécanismes en situation physiologique protègent le cerveau de l'HB, cependant dans certaines situations, ils sont dépassés. . (*Ostrow JD et al, 2003*)

Une analyse génétique des protéines de transport a été menée par Huang et col (*Huang et col, 2004*) qui ont mis en évidence différents variants géniques de ces protéines, cela peut expliquer en partie la susceptibilité interindividuelle à la bilirubine. L'inhibition de ces protéines par des médicaments est aussi possible. En effet, la ceftriaxone, l'érythromycine, la rifampicine, le vérapamil et le propranolol ont été identifiés comme inhibant l'action des glycoprotéines-P provoquant une augmentation des concentrations intracérébrales de bilirubine. (*Hascoët JM, 2003*) (*Hanko E et al, 2003*).

b. Symptômes et pronostic de l'ictère nucléaire :

Le nouveau-né atteint, de couleur jaune-vif, a un cri lent, aigu, monocorde. Il présente des troubles du tonus et se met volontiers en opisthotonos : le corps et la tête se renversent en arrière tandis que les membres s'étirent en extension. Ses yeux sont animés de mouvements anormaux. Des troubles neurovégétatifs sont constants.

Le pronostic est mauvais car si l'enfant ne meurt pas, il risque fort de garder des séquelles neurologiques majeures (surdité profonde, mouvements anormaux, troubles du tonus etc.)(*Jacqueline Rossant-Lumbroso, Lyonel Rossant, 2016*).



Chapitre III :
Hyperbilirubinémie

I. Définitions :

a. L'Hyperbilirubinémie :

Quand le taux de bilirubine dépasse **10mg/L (17 μ mol/l)**, on parle d'« *Hyperbilirubinémie* ». Elle peut être due à une production de bilirubine supérieure à ce que le foie normal peut excréter comme elle peut résulter d'une atteinte hépatique qui empêche l'excrétion de la bilirubine produite en quantité normales. En l'absence d'atteinte hépatique, l'obstruction des canaux excréteurs du foie, qui empêche l'excrétion de la bilirubine, peut aussi provoquer une Hyperbilirubinémie. Dans toutes ces situations, la bilirubine s'accumule dans le sang et, quand elle atteint une certaine concentration (environ **20 à 25 mg/L**), elle diffuse dans les tissus qui deviennent alors jaune. Cette affection porte le nom « *Jaunisse* » ou « *Ictère* ». (*Murray RK, 2008*).

b. L'ictère :

L'ictère est un syndrome caractérisé par une coloration jaune de la peau et des muqueuses occasionnée par une accumulation de la bilirubine. La coloration devient manifeste dans les connectives lorsque le taux de bilirubine plasmatique atteint environ **50 μ mol/L (3 mg/dL)**. La peau devient jaune à un taux de bilirubine d'environ **100 μ mol/L (6 mg/dL)**. (*Denis D, 1994*).

II. Classification des ictères :

De nombreuses classifications ont été proposées parmi lesquelles nous pouvons citer :

II.1. Classification de Popper et Schaffner (1957) :

Cette classification subdivise les ictères en deux groupes : Les ictères sans diminution du transit de la bile et qui ont pour origine une surproduction de pigment (bilirubine), et les ictères avec diminution du transit de la bile, regroupant les ictères qui ont pour origine une dégénérescence des cellules hépatique (hépatites), et les ictères qui sont dus à la stase biliaire, qu'elle soit extra hépatique (lithiase, etc.), ou intra hépatique, cette dernière regroupe les stases mécaniques (aplasie congénitale des conduits biliaires, hépatite fibreuse), et les stases fonctionnelles (stase biliaire sans obstacle mécanique).(*Schaffner et Popper,1957*).

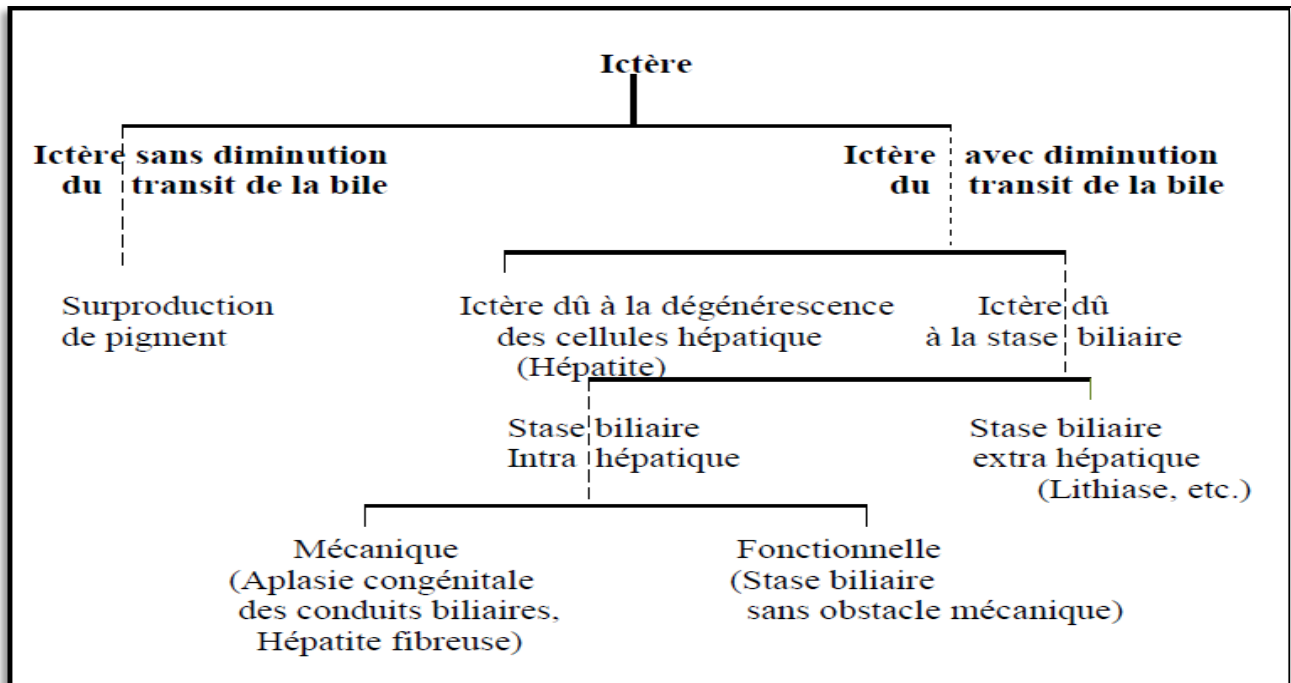


Figure11 : Classification des ictères (*Schaffner et Popper, 1957*)

II.2. Classification des ictères selon la nature de la bilirubine :

a) *Ictères à bilirubine libre, non conjuguée ou indirecte :*

Il s'agit le plus souvent d'une hyperproduction c'est-à-dire d'une **hémolyse**. Parfois, l'ictère sera lié à un déficit en **glucuronyl-transférase**. (*P.Valdiguié ,2000*)

b) *Ictères à bilirubine directe. Ictères par rétention :*

Ils sont tous liés à un syndrome de rétention biliaire, ou cholestase. (*P.Valdiguié ,2000*)
La cholestase met en cause un défaut de la sécrétion biliaire. Elle est intra-hépatique si le gêne à l'écoulement de la bile siège dans le foie lui-même, elle est extra-hépatique si l'écoulement de la bile est entravée dans l'arbre biliaire principal.

- **Ictères obstructifs (cholestase extra hépatique) :** la cholestase extra-hépatique survient lorsqu'un obstacle mécanique entrave l'écoulement de la bile du foie au duodénum. Les cholestases hépatiques sont causées en majorité par des calculs ou des tumeurs.
- **Ictères non obstructifs (cholestase intra hépatique) :** il n'existe pas de mécanisme unique pour expliquer la cholestase intra-hépatique. Dans certain cas, on évoque un

défaut dans l'élaboration de la bile; dans les autres cas: Un défaut des systèmes assurant l'évacuation de la bile dans les canalicules, une lésion de la membrane canaliculaire, une inflammation des petites voies biliaires intra hépatiques. L'administration de médicaments est la cause la plus fréquente de cholestase intra hépatique. (*Denis D, 1994*).

c) Ictères à bilirubine mixte :

Par leur fréquence, les hépatites aigus, quelle que soit leur étiologie, et les cirrhoses d'origine éthylique, post-hépatique, hémochromatosique ou biliaire primitive, constituent un groupe important où les deux fractions de la bilirubine sérique sont élevées. (*P.Valdiguié, 2000*).

III. Les étiologies des ictères :

III.1. Ictère à bilirubine non conjuguée (Libre) :

A. Ictère par hyperproduction : ictère hémolytique :

Une destruction précoce et exagéré des globules rouges entraîne un afflux de bilirubine au foie. L'ictère hémolytique se produit lorsque l'afflux de la bilirubine déborde les capacités, pourtant grandes, de conjugaison et d'excrétion du foie. C'est un ictère pré hépatique où le foie fonctionne normalement. (*Denis D, 1994*).

L'ictère s'associe à une splénomégalie et à une anémie dans le cadre classique des anémies hémolytiques. L'ictère est généralement discret, sans décoloration des selles (*P.Valdiguié, 2000*). L'ictère hémolytique peut être d'origine immunologique ou constitutionnelle :

↳ **Ictère hémolytique de nature immunologique :**

Les hémolyses allô ou iso-immunes s'observent essentiellement à la suite d'une transfusion sanguine incompatible et lors d'une grossesse compliquée d'une immunisation foeto-maternelle. Le diagnostic repose sur la mise en évidence d'une agglutinine la plus immunogène irrégulière (anti D) chez la mère. Le risque majeur est la maladie hémolytique du nouveau-né chez lequel le risque d'ictère nucléaire, évité par exsanguino-transfusion, existe dès que la bilirubine sérique atteint 300µmol/L.

Les anémies hémolytiques peuvent aussi être d'origine toxique (médicaments, Toxiques industriels, métaux lourds, venins), infectieuse et parasitaire. Ce dernier groupe est dominé par le paludisme en particulier lors de l'accès pernicieux.

Les hémolyses par fragmentation érythrocytaire répondent à plusieurs causes : Mécanique lors des prothèses valvulaires, traumatique après gros effort (hémoglobinurie), lors de microangiopathies chez l'enfant. (*P.Valdiguié ,2000*).

↳ ***Ictère hémolytique de nature constitutionnelle :***

a) Déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) :

Le déficit en l'enzymopathie érythrocytaire la plus fréquemment observée chez l'homme. Chez le nouveau-né La maladie se manifeste souvent à la naissance (le 2-3^e jour de vie) par un ictère et une pâleur en rapport avec l'anémie. Il peut être responsable d'hyperbilirubinémies sévères parfois compliquées d'ictères nucléaires. Chez l'adulte, il peut causer des crises hémolytiques aiguës. La transmission génétique, liée au chromosome X, sous-tend une expression préférentielle chez le garçon, mais il peut aussi se manifester chez les filles qu'elles soient homozygotes ou hétérozygotes. (*A. Renault et al, 2017*).

Tout au long de sa vie, le globule rouge est soumis à des agents oxydants menaçant l'intégrité de sa membrane et de l'hémoglobine. La lutte contre ces oxydants se fait grâce au GSH. La G6PD permet, au sein de la voie des pentoses, la synthèse de la NADPH nécessaire à la régénération du GSH. Le déficit en G6PD conduit à l'accumulation des agents oxydants ce qui favorise la rigidité des globules rouges qui traversent alors avec difficulté la pulpe splénique et y sont rapidement détruits. (*B.Mégarbane, 2008*)

b) Maladie de Minkowski Chauffard :

Le globule rouge est déformable et élastique et ces propriétés garantissent sa survie dans la circulation. Dans la sphérocytose héréditaire, les capacités physiques du globule rouge sont limitées par des anomalies génétiques concernant diverses protéines du squelette membranaire, le plus souvent l'ankyrine, la bande 3, la protéine 4.2, la chaîne α ou β de la spectrine. (*Cynober Thérèse et al, 2008*). Cela entraîne une augmentation de la perméabilité membranaire conduisant à un flux accru d'eau et de sodium dans le globule rouge qui acquiert une forme sphérique et elle va ainsi se lyser au niveau de la rate ce qui peut provoquer une anémie, une jaunisse, et une augmentation du volume de la rate.

Les manifestations de la maladie sont extrêmement variables d'un malade à l'autre. Certains enfants sont sévèrement atteints et ont des symptômes très marqués dès la naissance, alors que d'autres n'ont aucun symptôme pendant des années, mais dans beaucoup de cas (environ 2/3), la maladie apparaît dans la première année de vie, voire rapidement après la naissance.

L'évolution de la maladie dépend de sa sévérité. Généralement, l'anémie évolue par poussées, avec des épisodes d'aggravation de l'anémie qui sont favorisées ou déclenchées par des infections ou un traumatisme. (*Brigitte Bader-Meunier et al, 2007*).

c) *Les maladies génétiques de l'hémoglobine* : comme

- P-thalassémie homozygote,
- Drépanocytose homozygote

B. Ictère par déficit de conjugaison :

B.1. Ictère néo-natal du nouveau-né :

a) *L'ictère physiologique* :

Le développement morphologique du foie est pratiquement complété au troisième mois de gestation. En revanche, son développement fonctionnel tarde. Ainsi le système de conjugaison par le glucuronyl transférase vient à compléter sa maturité uniquement vers la deuxième semaine après la naissance.

L'immaturation du système ne pose pas de problème au fœtus car la bilirubine non conjuguée franchit librement la barrière placentaire et peut être évacuée dans le sang maternel. Elle en pose d'avantage au nouveau-né, handicapé par l'incapacité momentanée d'éliminer la bilirubine, et qui, par surcroît, est confronté à la destruction accélérée de son surplus de globules rouges.

Il n'est donc pas étonnant qu'une hyperbilirubinémie non conjuguée se développe durant les premiers jours de la vie. Chez le nouveau-né à terme, l'hyperbilirubinémie atteint un sommet entre le deuxième et le cinquième jour et devrait être résorbée au bout de 7 à 10 jours. Comme le nouveau-né à terme produit un peu de glucuronyl transférase, le taux maximum de bilirubine ne dépasse pas 170 $\mu\text{mol/L}$ (10mg/dL).

Chez le prématuré, le système glucuronyl transférase est encore plus immature : l'hyperbilirubinémie prend plus de temps à s'installer, devient plus prononcée et prend plus de temps à se résorber. Le taux maximal survient entre le 6^e et le 8^e jour et peut atteindre 256 $\mu\text{mol/L}$ (15mg/dL) (*Denis D, 1994*).

b) Ictère au lait maternel :

L'allaitement maternel peut intensifier l'hyperbilirubinémie. Le lait maternel contient une substance qui retarde de deux à trois semaines la maturation du système glucuronyl transférase. Le phénomène a été à l'origine imputé au 3α - 20β -prégnandiol, plus récemment l'attention s'est portée sur l'effet inhibiteur des acides gras.

L'hyperbilirubinémie apparaît vers le 4^e jour pour atteindre un sommet de 256 à 342 $\mu\text{mol/L}$ après 2 à 3 semaines. La situation se rétablit rapidement après arrêt de l'allaitement (*Denis D, 1994*).

c) L'ictère nucléaire :

L'ictère néonatal est en soi un état bénin, mais la situation peut devenir dramatique si la capacité « *physiologique* » d'éliminer la bilirubine s'ajoute à une autre cause d'ictère. Une fois que tous les sites de fixation de l'albumine sont occupés, la bilirubine en surplus devient libre de traverser la barrière hémato-encéphalique. La disposition de la bilirubine dans les noyaux gris centraux cause un état qu'on appelle ictère nucléaire ou Kernictère. S'ils ne meurent pas dans la première ou deuxième semaine de la vie, les nouveau-nés atteints d'ictère nucléaire présentent des séquelles neurologiques permanentes sur les plans moteurs, sensoriels et intellectuels.

Chez le nouveau-né à terme, l'ictère nucléaire apparaît à un taux de bilirubine supérieure à 340 $\mu\text{mol/L}$ (20 mg/dL). chez le prématuré, un taux aussi bas que 170 $\mu\text{mol/L}$ (10 mg/dL) peut être dommageable. (*Denis D, 1994*).

B.2. La maladie de Crigler-Najjar :

Le syndrome de Crigler-Najjar est un déficit profond en enzyme de conjugaison (*P. Valdiguié, 2000*)

✎ Le syndrome de Crigler-Najjar type I : est une maladie rare transmise sur le mode autosomique récessif et caractérisée par l'absence complète de glucuronyl transférase. Il est habituellement fatal dans les premiers mois de vie (*Denis D, 1994*).

✎ Le syndrome de Crigler-Najjar type II : est caractérisé par un déficit partiel en glucuronyl transférase. Il est relativement bénin. La bilirubine conjuguée est en grande partie monoglucuronide. (*Denis D, 1994*).

B.3. La maladie de Gilbert :

La maladie de Gilbert, déficit partiel en glycuronyl-transférase hépatique, est une affection fréquente à transmission autosomique dominante. Elle est souvent découverte à l'occasion d'un subictère conjonctival associé à une bilirubine indirecte élevée. (*P.Valdiguié, 2000*), L'augmentation de la bilirubinémie après un jeûne prolongé est une caractéristique du syndrome de Gilbert, la prévalence de la maladie de 3% à 5%. (*Denis D, 1994*).

III.2. Ictère a bilirubine conjuguée :

➤ Ictères cholestatique:

Cliniquement, l'ictère est très sombre, parfois « vert bouteille », les urines sont très foncées, presque noires, les selles sont blanchâtres, graisseuses, « mastic».

Il y a une bradycardie et surtout un prurit, parfois féroce, avec lésions cutanées de grattage, dû à l'élévation concomitante des sels biliaires dans le sang. Il y a un gros foie de cholestase.

Biologiquement, l'hyperbilirubinémie porte presque exclusivement sur la fraction conjuguée ou directe qui peut atteindre des valeurs supérieures à 500 μ mol/L. Les enzymes de cholestase, γ -GT, phosphatases alcalines, 5'nucléotidase, sont bien évidemment très augmentées. Il n'y a pas au début de réaction parenchymateuse d'insuffisance hépatique ni de cytolyse mais rapidement, de fait de la cholestase, les transaminases vont s'élever discrètement.

Les étiologies sont dominées par deux causes :

- *La lithiase biliaire* (ictère douloureux, fébrile, variable) ;
- *Le cancer de la tête du pancréas ou des voies biliaires* (ictère classiquement indolore, apyrétique, constamment progressif) ;

Les hépatites et les cirrhoses ont aussi dans leur tableau biologique une élévation de la bilirubine conjuguée, liée à la cholestase intra-hépatique, au niveau des canalicules biliaires, par l'œdème et l'inflammation. Cependant, il y a aussi parallèlement une élévation de la bilirubine libre. (*P.Valdiguié, 2000*).

III.3. Ictère à bilirubine mixte :

a) Syndrome de Dubin-Johnson:

Il est de transmission autosomique récessive, lié à des mutations homozygotes du gène codant pour un transporteur membranaire apical ATP-dépendant qui relaye l'efflux des glucuronides de la bilirubine et autres anions organiques conjugués de l'hépatocyte vers la bile. **(V. Barbu, C. Corpechot, 2010)**

Elle se traduit par l'existence d'un ictère en général modéré qui débute rarement avant la puberté et peut s'accroître lors d'infections intercurrentes .

La bilirubinémie se situe entre 30 et 70 $\mu\text{mol/L}$ mais peut s'élever jusqu'à 350 $\mu\text{mol/L}$: plus de la moitié de la bilirubinémie est représentée par la forme conjuguée. **(M. Odièvre, 1997)**

b) Syndrome de Rotor :

Le syndrome de rotor s'apparente au syndrome de Dubin-Johnson sauf que les hépatocytes ne contiennent pas de pigments et que l'élimination des opacifiants biliaires est normale. **(Denis D, 1994)**. Il s'agit d'une hyperbilirubinémie modérée entre 30-70 $\mu\text{mol/L}$ avec des fluctuations qui peuvent s'accompagner de taux atteignant 280 $\mu\text{mol/L}$. Cette hyperbilirubinémie est à prédominance conjuguée et reste isolée, sans symptômes d'accompagnement, sans signe de cholestase ni clinique ni biologique . Quelques nuances semblent séparer cette entité de ce qui est observé au cours de la maladie de Dubin-Johnson : la cholécystographie par voie orale permet d'opacifier la vésicule biliaire et la fréquence de cette situation semble beaucoup plus rare que celle de la maladie de Dubin-Johnson. **(M. Odièvre, 1997)**.

IV. La prise en charge de l'hyperbilirubinémie :

IV.1. La photothérapie :

C'est actuellement le traitement de référence de l'ictère du nouveau-né. La photothérapie permet la transformation au niveau de la peau de la bilirubine non conjuguée plasmatique en métabolites solubles éliminés dans les urines. **(Claire Boithias et al, 2005)**.

Plusieurs facteurs interviennent dans l'efficacité d'un appareil de photothérapie :

- ↪ La longueur d'onde de la lumière utilisées (lumière bleue ou blanche : 430-490 nm)
- ↪ La surface cutanée exposée.
- ↪ L'énergie dispensée par la source lumineuse. (irradiance)
- ↪ la distance entre l'enfant et la source de lumière. (à 50 cm idéalement à moins de 20 à 30)
- ↪ La durée d'exposition.

Il existe trois niveaux de photothérapie selon l'irradiance : (*Claire Boithias et all ,2005*)

- Les dispositifs en berceau ou maternisés
- La photothérapie classique
- La photothérapie intensive

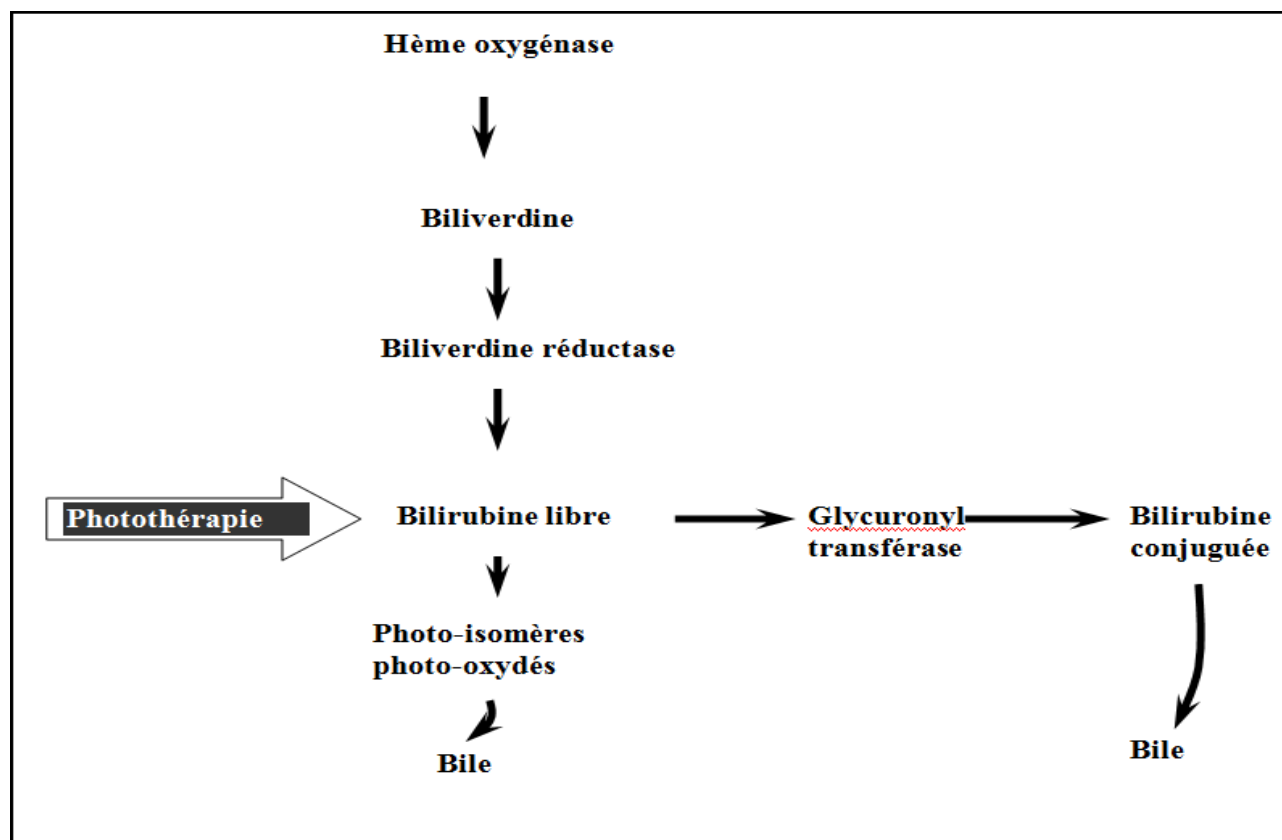


Figure 12 : Mécanisme d'action de la photothérapie (B. Branger, 2006).

IV.2. Exsanguino-transfusion (EST) :

Il s'agit d'une technique lourde tant sur le plan transfusionnel qu'organisationnel, nécessitant des équipes entraînées. Les indications ont été considérablement réduites compte tenu des performances de la photothérapie intensive bien conduite, de la précocité du dépistage et de la qualité de l'évaluation et de la prise en charge des facteurs de risque

1. Principe :

L'EST est la méthode la plus rapide pour diminuer une bilirubinémie menaçante. Elle consiste à remplacer la masse sanguine du nouveau-né avec du sang frais compatible avec les groupes sanguins de la mère et de l'enfant. Elle permet d'éliminer la bilirubine, de remplacer les hématies du nouveau-né par des hématies compatibles avec le groupe sanguin maternel et d'extraire la fraction circulante des anticorps immuns (*Jean-Christophe Rozé et all ,2006*)

2. Indications et complications

Les indications sont posées comme pour la photothérapie selon les courbes de références. Elles peuvent être affinées en utilisant la mesure du rapport bilirubine totale (mg/dl)/albuminémie (g/l). . (*Labrune P, 1998*).

L'EST est recommandé en cas d'HB sévère au cours des premières 24 heures ou en cas d'inefficacité de la photothérapie intensive. Les complications de l'EST sont multiples, les plus fréquemment décrites sont l'embolie gazeuse, les troubles du rythme cardiaque, les apnées, le vasospasme, la thrombose, la thrombopénie, l'entérocolite ulcéro-nécrosante, les désordres hydro-électrolytiques et les complications infectieuses post transfusionnelle.

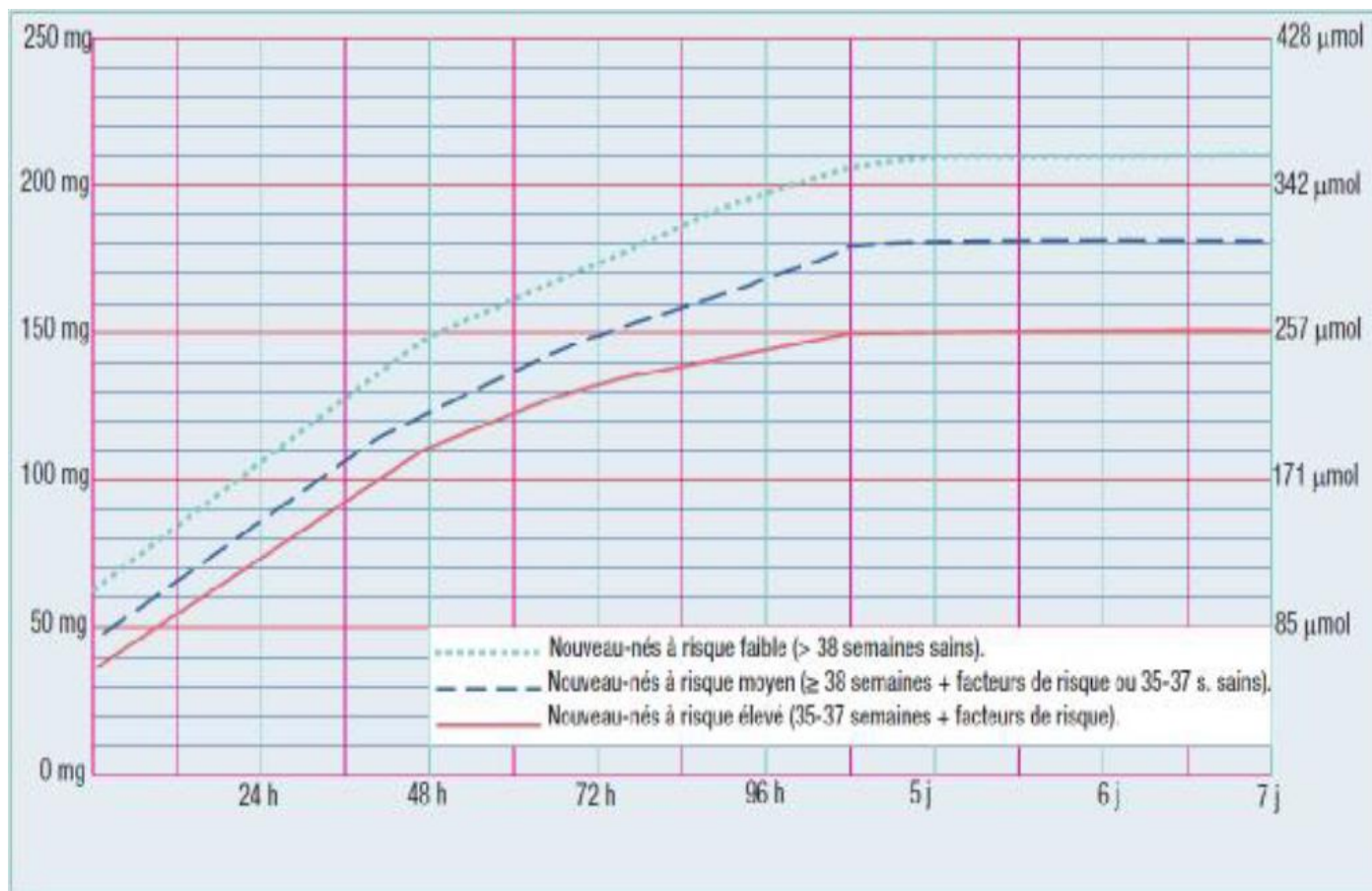


Figure 13 : Indications de la photothérapie (*American Academy of Pediatrics, 2004*)

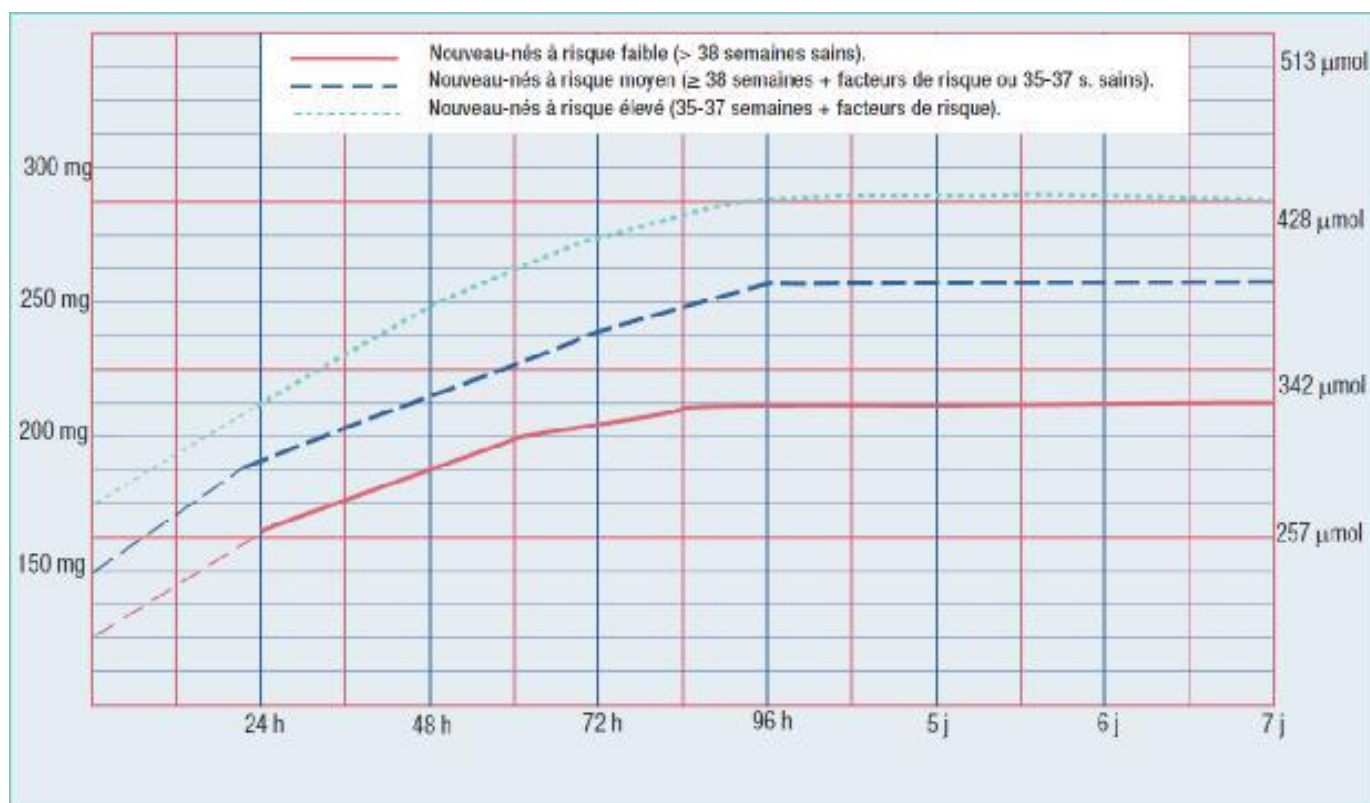


Figure 14: indication de l'exsanguino-transfusion (*American Academy of Pediatrics, 2004*).

IV.3. Autres traitements:

- **Perfusion d'albumine :**

Plusieurs auteurs français, contrairement aux recommandations américaines, conseillent l'administration de perfusion d'albumine en association à la photothérapie intensive dans le traitement de l'ictère sévère. On utilise de l'albumine à 20% diluée de moitié dans du sérum glucosé à 5% à la dose de 1 à 1,5g/kg. (*Labrune P, 1998*).

- **Phénobarbital :**

Le phénobarbital augmente la conjugaison et l'excrétion de la bilirubine. Mais étant donné ces effets secondaires, il semble ne plus avoir sa place dans le traitement de l'ictère en maternité. (*American Academy of Pediatrics, 2004*).

- **Inhibiteurs de la synthèse de la bilirubine :**

Les méso-porphyrines sont des inhibiteurs de l'hème-oxygénase, elles diminuent la bilirubinémie du nouveau-né et les indications de photothérapie ou d'hospitalisation pour ictère. Cependant leur utilisation en pratique courante n'est pas encore recommandée (*Suresh GK, Martin CL, Soll RF, 2003*).

- **Immunoglobulines intraveineuses :**

L'utilisation de gamma globulines intraveineuses est recommandée par l'**AAP** en association à la photothérapie intensive en cas d'HB sévère due à une IFM du système rhésus ou ABO .La dose recommandée est de 0,5 à 1 g/kg à administrer sur 2 heures et elle peut être répétée après un délai de 12 heures. (*American Academy of Pediatrics, 2004*).

***Chapitre IV : Exploration
biochimique de la bilirubine***

La mesure de la bilirubinémie permet d'une part de confirmer l'ictère clinique, qui peut être plus ou moins intense, et d'autre part, en différenciant les formes conjuguées (dites directes) et non conjuguées (dites indirectes) (*Myara et Trivin, 1994*).

Il existe actuellement trois grands principes de dosage de la bilirubine :

- ⊕ **Par diazoration**
- ⊕ **Par spectrométrie directe**
- ⊕ **Par oxydation**

I. Les méthodes par diazoration :

Sont les plus employées, la réaction produit les *azobilirubines* qui sont des di- pyrroles diazoté. Une molécule de bilirubine génère deux azobilirubines (*Van den Berg et Muller, 1916*).

Il existe de très nombreuses modifications de la technique initiale de *Van den Berg*. Les variations peuvent concerner :

- **L'agent de diazotation**
- **La nature de l'accélérateur**
- **Le pH de la diazoration**
- **Le pH du milieu de lecture**

I.1 .L'agent de diazoration :

L'agent de diazotation choisi est très fréquemment l'acide sulfanilique diazoté par le nitrite de sodium. Différentes concentrations ont été proposées, n'apportent pas de solution définitive à l'instabilité dans le temps de ce sel de diazonium. C'est d'ailleurs l'inconvénient majeur de ce réactif, car son renouvellement quotidien est une source de variation dans la reproductibilité et une contrainte à laquelle il ne faut pas échapper.

Un certain nombre de molécules altèrent la qualité de l'acide sulfanilique diazoté : la vitamine C, les groupements thiols, l'hémoglobine, les sels de potassium. Elles entraînent des erreurs par défaut (*Myara et Trivin, 1994*).

D'autres agents de diazotation ont été proposés sans grand succès. C'est le cas du 2.4 dichloranilate dans la méthode de Rand et di Pasqua (*Rand et Di Pasqua, 1962*).

I.2. La nature de l'accélérateur :

Différents types d'accélérateurs sont utilisés pour activer la vitesse de la réaction de diazotation de la bilirubine non conjuguée. Certains sont des compétiteurs comme la caféine et la diphylline. D'autres, agissent en dénaturant la protéine, ce qui modifie la liaison albumine-bilirubine tout en augmentant la solubilité du pigment dans le milieu de diazoréaction. C'est le cas du méthanol ou de l'éthanol. Le Diméthylsulfoxyde occupe une place à part, il agit en augmentant la solubilité de la bilirubine dans le milieu de réaction et permet une diazoréaction rapide. Enfin il faut signaler que la bilirubine peut former des paires d'ions avec des ammoniums quaternaires. Le complexe est alors très rapidement diazoté. Malgré la grande diversité des accélérateurs proposés, la majorité des praticiens utilisent le mélange caféine benzoate de sodium associé à l'acide sulfanilique diazoté (*Doumas et Wu, 1991*).

L'emploi d'accélérateur avait permis très tôt de différencier la forme non conjuguée de la forme conjuguée. Cette dernière forme, qui réagit directement avec le diazoréactif, peut être mesurée en l'absence d'accélérateur dans le milieu de réaction. Nous savons maintenant qu'en plus des glucuronides, d'autres formes de bilirubine réagissent directement avec l'agent de diazotation. D'autres dérivés conjugués, certes rares, comme les glutathion conjugués, les glucosyl- et xylosyl-conjugués peuvent être présents, notamment en cas de déficit de la glucurono-conjugaison. De même, au cours des traitements par photothérapie, l'apparition de photo-dérivés de la bilirubine (*isomères 4Z 15E, 4E 15Z et lumirubine*) peut poser des difficultés pour l'interprétation des résultats des dosages de bilirubine totale et conjuguée. La lumirubine est diazo-négative tandis que les autres photos dérivées sont directement plus ou moins intensément diazo-positifs. Ces données n'étant pas actuellement quantifiables, leur incidence sur le taux de bilirubine totale et conjuguée ne peut être évaluée précisément. Actuellement il n'existe pas de protocole facilement accessible pour différencier les photos *57 dérivées*, seules des techniques de chromatographie liquide haute performance sont disponibles (*Myara et Trivin, 1994*).

I.3. Le PH de diazoréaction :

Le pH de la réaction de diazotation est différent pour déterminer la bilirubine totale et conjuguée. Dans le premier cas, ce pH est compris entre 5 et 6, alors que dans le second il doit être impérativement inférieur à 2. L'absence d'accélérateur peut être compensée par un volume équivalent de NaCl 0,15 mol/l (*Myara et Trivin, 1994*).

Il est toutefois recommandé d'ajouter un volume d' HCl (50 mmol/l) et d'attendre quelques minutes avant la diazotation. Ceci réduit de manière importante la contribution de la bilirubine non conjuguée. Si la pré-incubation ne peut être pratiquée, notamment sur les analyseurs automatiques, un pH de 1,5 doit être respecté pour tout dosage de bilirubine conjuguée (*Lott et Doumas, 1993*).

I.4. Le PH de milieu de lecture :

Les techniques manuelles se terminent le plus souvent par une alcalinisation du milieu par un tartrate alcalin. Le milieu réactionnel passe de la couleur rouge à bleu vert. Cette alcalinisation arrête la diazoreaction, stabilise les azobilirubines formées et accroît la sensibilité de la lecture (*Myara et Trivin, 1994*).

L'utilisation de plusieurs réactifs par dosage est difficile sur un grand nombre d'analyseurs automatiques. Ils permettent de standardiser à la fois les temps de réaction et les conditions de lecture. C'est pourquoi l'impossibilité d'alcaliniser le milieu ne se traduit pas par une dégradation des performances (*Myara et Trivin, 1994*). Parmi toutes les techniques proposées, (*Doumas et al 1985*), ont décrit une technique de référence qui utilise l'acide sulfanilique diazoté, et le mélange caféine benzoate comme accélérateur.

II. Mesure par spectrométrie directe :

II.1 .Index ictérique :

Cette méthode exploite les propriétés spectrales des solutions de bilirubine, qui présentent en milieu protéique, un maximum d'absorption voisin de 460 nm. Selon l'origine de l'albumine, de légères déviations du spectre peuvent être observées. Le calibrage doit donc être obligatoirement effectué dans une solution d'albumine humaine tamponnée à pH=7,40 par un tampon phosphate. Les causes d'interférences sont nombreuses : carotène, opalescence ou lactescence de l'échantillon, présence d'hémoglobine (interférence positive).

Pour éliminer ces interactions, une lecture à 2 longueurs d'ondes différentes est pratiquée. Ainsi, la méthode *d'Hertz-Dybkaer*, préconise la mesure simultanée de l'absorbance à **469** et **521** nm.

La spectrophotométrie directe n'est pas valable pour des échantillons contenant de la bilirubine conjuguée ou delta, car leur spectre est différent de celui de la bilirubine non conjuguée.

***NB : L'index ictérique doit donc être réservé aux échantillons de nouveau-né (Doumas et Wu, 1991).**

II.2. Mesure par spectrométrie directe en chimie sèche

Les plaques "BuBc" permettent la détermination simultanée des bilirubines conjuguées et non conjuguées, par réflectométrie à deux longueurs d'onde différentes (400 et 460 nm). Pour augmenter la réflectivité des molécules, elles sont auparavant liées par interactions spécifiques à un polymère cationique intégré dans la plaque. Ce système ne mesure pas la bilirubine delta, retenue dans les couches supérieures de la plaque. Il peut être utilisé pour mesurer la bilirubine totale du nouveau-né, chez qui la concentration en bilirubine delta est négligeable. Le système est calibré avec des solutions de bilirubine non conjuguée ou de ditaurate de bilirubine (*Wu et al, 1984*).

II.3. Mesure par spectrométrie directe après séparation par Chromatographie liquide Haute performance (CLHP):

Dans une des techniques, les mono et di conjugués sont convertis rapidement et quantitativement en mono- et diméthyle esters par méthanolyse alcaline. Les méthyl-esters et la bilirubine non conjuguée, sont extraits par le chloroforme et séparés par CLHP. La bilirubine delta, piégée à l'interface chloroforme-eau, n'est pas détectée. Le principal avantage de cette méthode est de pouvoir mesurer de faibles quantités de dérivés mono et di conjugués, même à des taux de bilirubine normaux. Une de ses principales applications en biologie clinique est le diagnostic de maladie de Gilbert (*Muraca et Blanckaert, 1983*).

III. Méthodes par oxydation :

La bilirubine peut être oxydée par voie chimique : les différentes techniques se différencient par leur agent d'oxydation (perchlorure de fer, acide phosphorique) et par leur mode de lecture (spectrophotométrie ou fluorimétrie). Ces méthodes sont très peu utilisées. En revanche, l'oxydation enzymatique s'est développée grâce à la préparation d'une bilirubine oxydase (BOX), isolée d'un champignon, *Myrothecium verrucaria*. Celle-ci catalyse la réaction :



La biliverdine est convertie en dérivés violets ou incolores qui n'interfèrent pas avec le spectre de la bilirubine. La diminution de l'absorbance liée à la disparition de la bilirubine est proportionnelle à la concentration. La réaction a lieu à pH= 8,2 en présence de dodécylsulfate de sodium (SDS) et de cholate de sodium pour dissocier la bilirubine de l'albumine. Ceci accroît la vitesse de la réaction (*Myara et Trivin, 1994*).

Le calibrage s'effectue avec des solutions de bilirubine non conjuguée. Le choix de la longueur d'onde de mesure se situe entre 420 et 470 nm. Le maximum d'absorbance est 445 nm pour la bilirubine non conjuguée, 425 nm pour la conjuguée et 440 nm pour la bilirubine delta.

C'est pourquoi il est préférable d'effectuer les mesures à la longueur d'onde de 445 nm. La reproductibilité, estimée par le coefficient de variation, varie de 2 % pour les fortes valeurs de bilirubine, à 10 % environ pour les faibles valeurs (*Myara et Trivin, 1994*).

En résumé, les techniques de diazoreaction permettent le dosage de la bilirubine totale et directe, d'où l'on déduit la concentration de bilirubine "indirecte". En l'absence de toute interférence, bilirubines directe et indirecte peuvent être assimilées à bilirubine conjuguée et non conjuguée. Les techniques par spectrométrie directe sans séparation préalable ne dosent que la bilirubine totale.

La technique par les plaques «BuBc » à bilirubine non conjuguée, et conjuguée en différenciant cette dernière de la bilirubine delta qui est calculée. Les quatre formes circulantes (non conjuguée, mono et di glucuronides et bilirubine delta) ne sont appréhendées que par une technique de CLHP. Enfin, la technique d'oxydation ne mesure que la bilirubine totale (*Myara et Trivin, 1994*).

PARTIE PRATIQUE

CHAPITRE I : Matériel et méthodes

Notre travail consiste à une étude comparative entre deux méthodes de dosage de la bilirubine de 114 sérums des nouveau-nés provenant du service de pédiatrie (unité de prévention) du centre hospitalo-universitaire de Blida « Hassiba Benbouali » de la région de Blida durant une période qui s'étale de Janvier au Mai 2017.

I. Matériel :

I.1. Matériel biologique :

a) Modalité du prélèvement :

- ➔ chez le nouveau-né, il pourra être fait au niveau de la veine jugulaire.

b) L'échantillon :

- ➔ L'analyse se fait sur le sérum recueilli sur tube sec ou le plasma recueilli sur **héparine** ou **EDTA**.
- ➔ Il est conseillé d'éviter de traiter les échantillons hémolysés ou ayant subi plus d'une décongélation.
- ➔ Il faut séparer le plus rapidement possible le sérum ou le plasma du culot globulaire (dans les 2 heures qui suivent le prélèvement).
- ➔ Le prélèvement doit être protégé de la lumière, la bilirubine est photosensible.
- ➔ Il faut s'assurer avant emploi que les réactifs et les échantillons sont à la température ambiante pendant 10 à 20 minutes

c) Transport et conservation :

Le prélèvement doit être protégé de la lumière. Il peut être conservé 8 heures à l'abri de la lumière à température ambiante comme il peut être congelés à -20°C pendant 3 mois

I.2. Matériel non biologique :

a) Equipements :

➡ Centrifugeuse :

Principe :

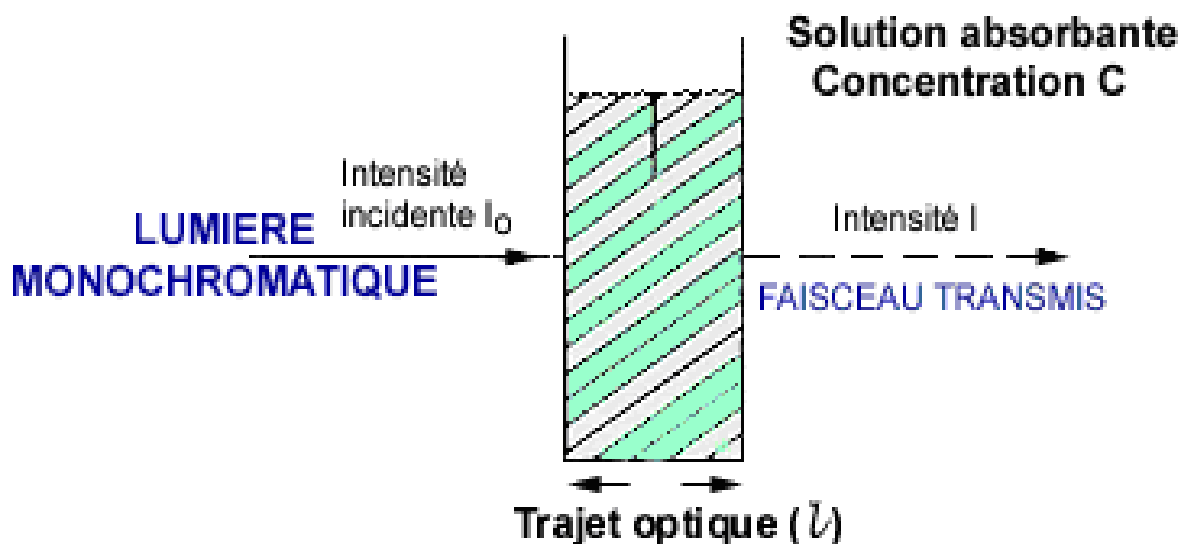
La centrifugation est une technique qui utilise le principe de la force centrifuge pour séparer les composants du sang en vue d'une analyse ultérieure. Le sang est récolté dans des tubes à centrifugation qui sont ensuite placés dans la centrifugeuse. Pendant la centrifugation certains composants du sang vont sédimenter et se déposer au fond du tube, ils sont ainsi séparés du surnageant. La centrifugation se fait à **3000 tours /min** pendant **5-10 min**.

➡ Spectrophotomètre :

Principe de l'appareil :

Un faisceau lumineux émis par une source lumineuse, traverse la cuve remplie par la solution préparée (sérum + réactif). Une partie de cette lumière incidente est absorbée par les molécules colorées (bilirubine), et est mesurée.

Soit une lumière monochromatique traversant une solution absorbante de concentration connue dans une cuve d'épaisseur l .



Une partie de ce rayonnement sera absorbée par l'échantillon et une partie sera transmise. Bouguer, Lambert et Beer ont étudié les relations qui existent entre I_0 et I : l'intensité d'une lumière Monochromatique traversant un milieu où elle est absorbée décroît de façon exponentielle, On obtient alors la relation connue sous le nom de **loi de Beer-Lambert** :

$$A = -\log T = \epsilon l C$$

Eléments de base de l'appareil :

1. Une source d'énergie (électricité).
2. Source lumineuse : son rôle est de fournir la radiation lumineuse.
3. Monochromateur destiné à éliminer les longueurs d'ondes non désirés.
4. La cuve ou récipient à échantillon, dans lequel la solution colorée est placée pour la photométrie, il est d'épaisseur de 1 cm.
5. Détecteur : Cellule photoélectrique pour transformer l'énergie lumineuse transmise en énergie électrique pouvant être mesurée. Le détecteur est relié à un enregistreur qui permet de tracer un spectre d'absorption de l'échantillon analysé.

b) Matériel de laboratoire :

- ➡ Portoir en plastique : 90 trous.
- ➡ Des micropipettes : 50, 100, 500, 1000 μml .

c) Consommable :

- ➡ Réactifs.
- ➡ Tubes secs de 5 ml.
- ➡ Embouts jaunes et bleus.

II. Méthodes :

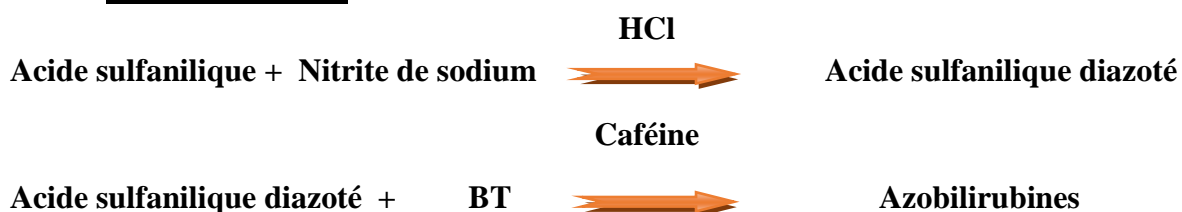
II.1. Méthode JENDRASSIK-GROFT :

a) Principe :

C'est une méthode colorimétrique à point finale. La détermination de la bilirubine totale est obtenue par la réaction avec l'acide sulfanilique diazoté, en présence de caféine, qui conduit à la formation d'un pigment azoïque. La bilirubine directe est obtenue par la réaction précédente en l'absence de **caféine**.

b) Les réactions mise en jeu :

✗ Bilirubine totale :

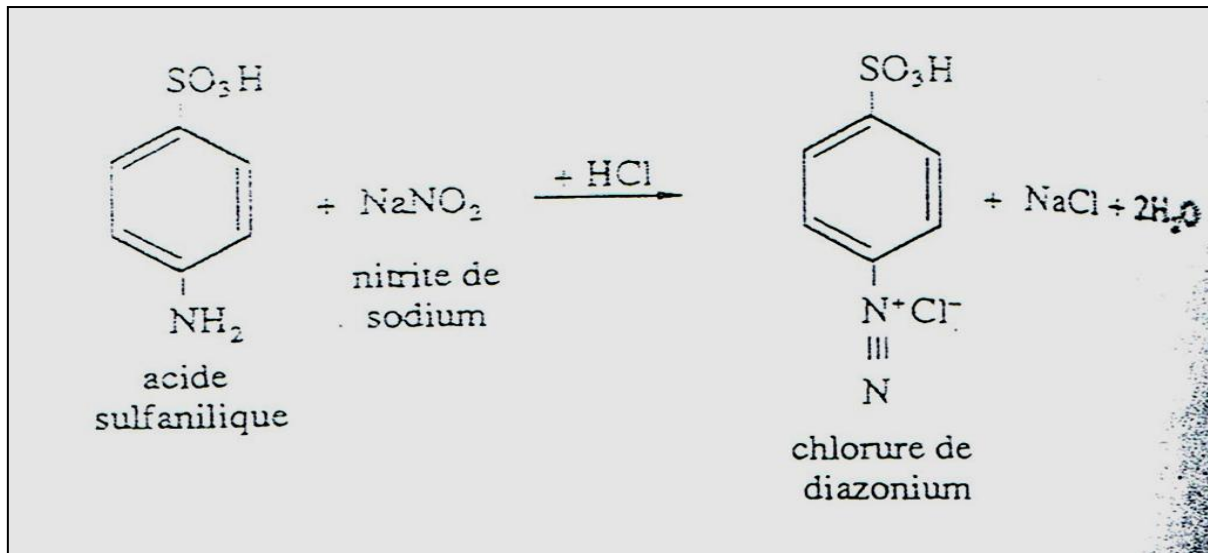


✗ Bilirubine directe :

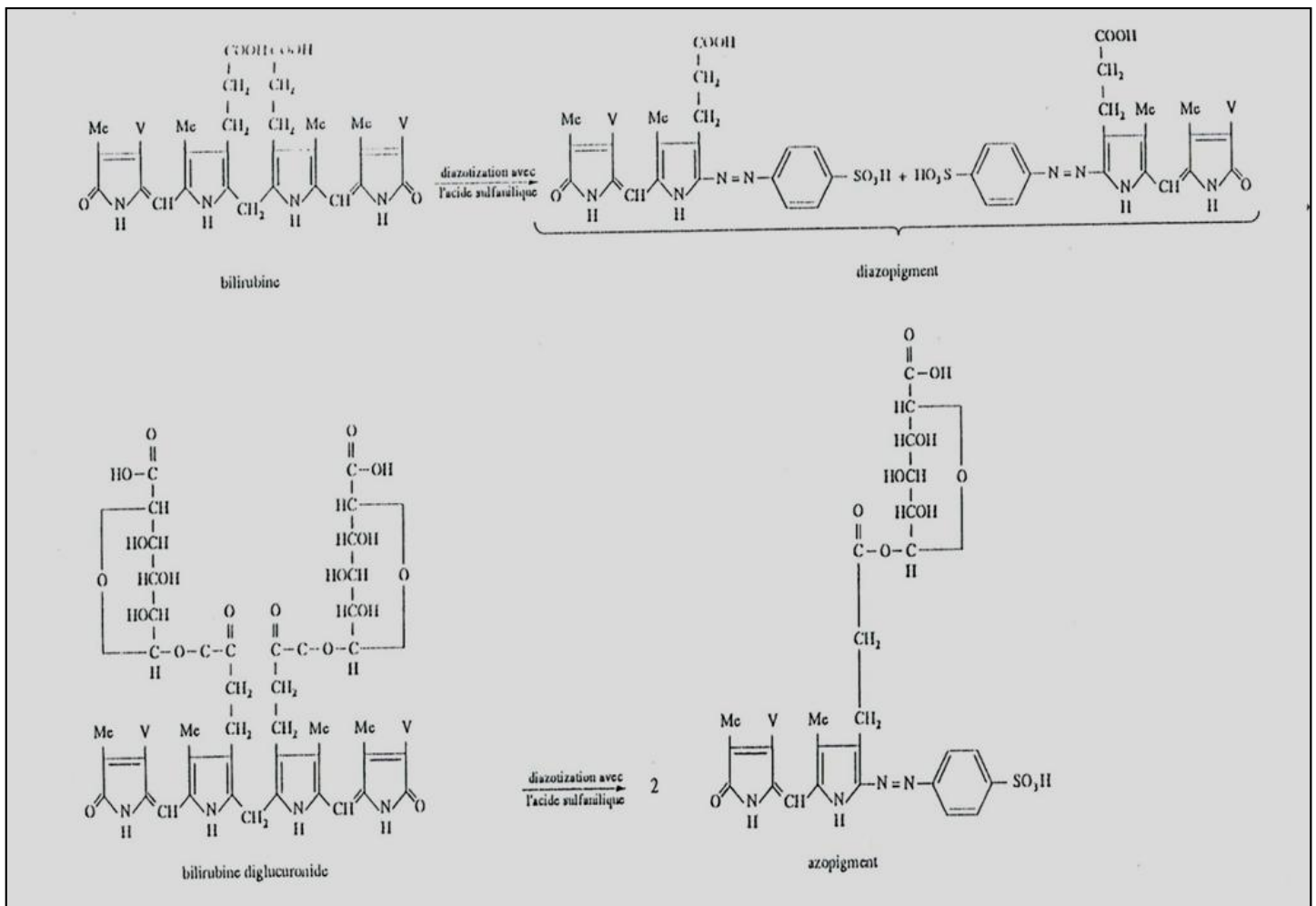


c) Réactifs utilisés :

Réactifs	Composition	Concentration
Réactif 1	Acide sulfanilique	29 mmol/L
	Acide chlorhydrique HCl	0.17 N
Réactif 2	Nitrite de sodium	25 mmol/L
Réactif 3	Caféine	0.26 mol/L
	Benzoate de sodium	0.52 mol/L
Réactif 4	Tartrate double de potassium et de sodium	930 mmol/L (175g/L)
	NaOH	1.9N



Formation de l'acide sulfanilique diazoté (Denis doré, 1994)



Réaction de la bilirubine non conjuguée et de la bilirubine conjuguée avec l'acide sulfanilique diazoté (Denis doré, 1994)

d) Conservation et Stabilité du réactif :

Conserver à température ambiante (<25 °C). Les composants du kit sont stable jusqu'à la date de péremption indiqué sur l'étiquette. Les réactifs seront altérés si : Il existe une présence de particules ou de turbidité.

e) Préparation des réactifs :

Tous les réactifs sont prêts à l'emploi.

f) Mode opératoire :**•Bilirubine totale :**

1-Introduire dans les tubes à essai :

<i>Tubes</i>	<i>Témoin-essai</i>	<i>Essai</i>
<i>Réactif 1 : Acide sulfanilique</i>	<i>100 µl</i>	<i>100 µl</i>
<i>Réactif 2 : Nitrite de sodium</i>	<i>—</i>	<i>50 µl</i>
<i>Réactif 3 : Caféine</i>	<i>500 µl</i>	<i>500 µl</i>
<i>Echantillon</i>	<i>100 µl</i>	<i>100 µl</i>
<i>2-Mélanger et incubé 10 à 15 min à température ambiante.(20-25 °C).</i>		
<i>Réactif 4 : Tartrate double</i>	<i>500 µl</i>	<i>500 µl</i>
<i>3-Mélanger et incubé exactement 5 min.</i>		

4-Lecture :

- ✓ Longueur d'onde : 578 nm.
- ✓ Température : 37°C.
- ✓ Zéro de l'appareil : Blanc réactif.
- ✓ Stabilité de la coloration : 1 heure minimum.

•Bilirubine directe :(BD)

1-Introduire dans les tubes à essai

<i>Tubes</i>	<i>Témoin-essai</i>	<i>Essai</i>
<i>Réactif 1</i>	<i>100 µl</i>	<i>100 µl</i>
<i>Réactif 2</i>	<i>—</i>	<i>50 µl</i>
<i>Eau physiologique 9%</i>	<i>1000 µl</i>	<i>1000 µl</i>
<i>Echantillon</i>	<i>100 µl</i>	<i>100 µl</i>
<i>2-Mélanger et incubé 5-10 min à température ambiante. (20-25°C).</i>		

3-Lecture :

- ✓ Longueur d'onde : 546 nm.
- ✓ Température : 37°C.
- ✓ Zéro de l'appareil : blanc réactif.

g) **Calculs :**

- **Bilirubine totale :**

F_{BT} = 108

Alors:

$$\text{BT} : (\text{absorbance du blanc essai} - \text{absorbance de l'essai}) \times 108 = \text{mg /L}$$

- **Bilirubine directe :**

On a calculé la concentration de la BD on utilisant l'étalon :

$$[\text{BD}] = \frac{\text{Abs (A) échantillon} - \text{Abs(A) blanc échantillon}}{\text{Abs(A) étalon} - \text{Abs(A) blanc étalon}} * [\text{Conc.étalon}]$$

***Si on veut exprimer le résultat en unité internationale :**

$$\text{mg/L} \times 1.71 = \mu\text{mol/ L}$$

h) Performances caractéristiques de fonctionnement :

- ❖ Sensibilité comme limite de détection : **0.01mg/L.**
- ❖ Linéarité : l'essai est linéaire jusqu'à **2.5mg/L.**

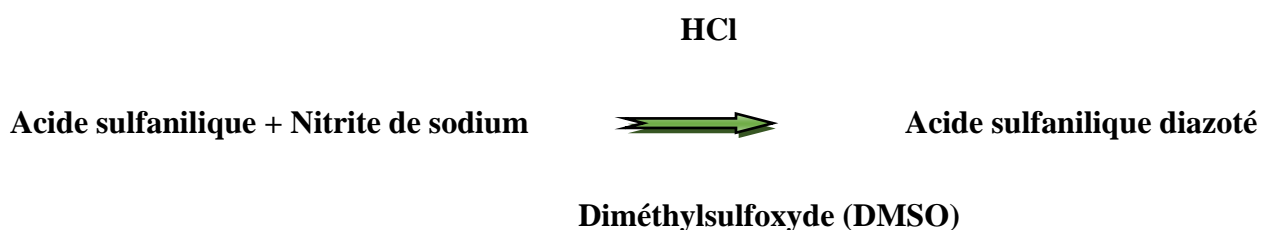
II.2. Méthode de DMSO :

a) Principe :

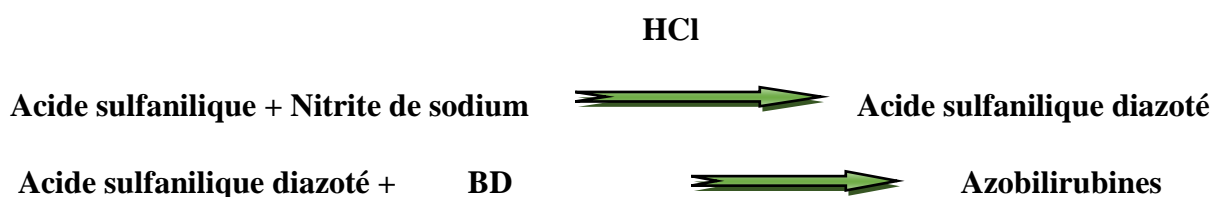
C'est une méthode colorimétrique à point finale. L'acide sulfanilique réagit avec le nitrite de sodium pour donner de l'acide sulfanilique diazoté. En présence de diméthyle sulfoxyde(DMSO), la bilirubine totale se couple avec l'acide sulfanilique diazoté pour donner l'Azobilirubines .le dosage de bilirubine directe se fait en l'absence de DMSO.

b) Les réactions mise en jeu :

✗ Bilirubine totale :



✗ Bilirubine directe :



c) Réactifs utilisés :

Réactifs	Composition	Concentration
Réactif 1 : Bilirubine totale	Acide sulfanilique Acide chlorhydrique Diméthylsulfoxyde	30 mmol/L 150 mmol/L 7 mmol /L
Réactif 2 : Bilirubine directe	Acide sulfanilique Acide chlorhydrique	30 mmol/l 150 mmol/L
Réactif 3	Nitrite de sodium	20 mmol/L
Réactif 4	Etalon : BT /BD	(62 µmol /L) (25 µmol/L)

d) **Préparation des réactifs :**

1-Préparation de solution de travail :

Mélanger :

- 20 vol de R1 avec 1 vol de R3 (pour le dosage de BT)
- 20 vol de R2 avec 1 vol de R3 (pour le dosage de BD).
- La solution est stable 6 heures à 20-25 °C ou 2 jours à 2-8 °C.

2-préparation de l'étalon :

- Reconstituer de lyophilisat R4 avec exactement 3 ml d'eau distillée.
- Attendre 15 min
- Compléter la dissolution du lyophilisat par retournement successive du flacon
- Les concentrations exactes sont indiquées sur chaque flacon
- La stabilité a l'obscurité après reconstitution est de :
 - ✓ 2 jours à 20-25 °C
 - ✓ 4 jours à 2-8 °C
 - ✓ 6 semaines à -20°C

Il est indispensable d'établir un facteur de calibration dans les conditions du laboratoire dès la reconstitution de l'étalon R4.

e) **Mode opératoire :**

°**Bilirubine totale :**

1. Introduire dans les tubes à essai :

	Etalon		Echantillon	
	Blanc	Dosage	Blanc	Dosage
Etalon R4	50 µl	50 µl		
Echantillon			50 µl	50 µl
Réactif R1	1 ml		1 ml	
Solution de travail (BT)		1 ml		1ml

2. Mélanger et incuber exactement 5 min à 37 C°

3. Lire a l'absorbance (A) de l'étalon à 555 nm contre son blanc étalon.

4. Lire à l'absorbance (A) de l'échantillon à 555 nm contre son blanc échantillon.

°**Bilirubine directe :**

1. Introduire dans les tubes à essai :

	Étalon		Echantillon	
	Blanc	Dosage	Blanc	Dosage
Étalon R4	50 µl	50 µl		
Echantillon			50 µl	50 µl
Réactif R2	1 ml		1 ml	
Solution de travail(BD)		1 ml		1ml

2. Mélanger et incuber exactement 5 min à 37°C

3. Lire à l'absorbance (A) de l'étalon à 555 nm contre son blanc étalon

4. Lire à l'absorbance (A) de l'échantillon à 555 nm contre son blanc échantillon

f) Lecture :

- ✓ Longueur d'onde : 555 nm.
- ✓ Température : 37°C
- ✓ Zéro de l'appareil : blanc étalon ou blanc échantillon

g) Calculs :

$$[\text{Bil. Tot. ou Di}] = \frac{\text{abs(A) échantillon} * [\text{Conc.étalon}]}{\text{Abs(A) étalon}}$$

$$F = \frac{(\text{Conc. Bilirubine Totale ou directe}) \text{ étalon}}{\text{Abs (étalon)- Abs (blanc étalon)}}$$

Remarque :

- Diluer les échantillons de nouveau-nés ou très ictériques au 1/5 dans une solution de NaCl à 9 g/L
- Si on veut exprimer le résultat en unité internationale SI :

$$\text{mg/L} \times 1.71 = \mu\text{mol/L}$$

h) Performances analytiques :

- ❖ La limite de détection (bilirubine totale): **2 mg /L -200 mg/L**
- ❖ La limite de détection (bilirubine directe) : **1 mg /-100 mg/L.**

III. Interférences analytiques:**1. Situation physiologique-habitude du patient :**

Grossesse: diminution lors des 2 premiers trimestres

Traitements intercurrents : De nombreux médicaments ou leurs métabolites peuvent induire une interférence analytique :

➡ Les médicaments augmentant le taux de bilirubine :

- ✓ Rifampicine (qui colore aussi les urines),
- ✓ Diurétiques

➡ Les médicaments diminuant le taux de bilirubine :

- ✓ Aspirine
- ✓ Phénobarbital

2. Facteurs liés à l'environnement :

Exposition à la lumière et la température: la bilirubine se caractérise par sa très grande sensibilité à la photo oxydation par la lumière (oxydation température dépendante) ce qui aboutit à sa dégradation.

3. Facteurs liés à la manipulation :

L'hémolyse : l'éclatement des globules rouges et la libération de leur contenu dans le plasma augmente la concentration des métabolites d'origine intra-érythrocytaire dont l'hémoglobine qui a une interférence optique avec la bilirubine

4. Les patients d'âge extrême :

Les nouveau-nés : les valeurs de référence sont différentes de celles des adultes du fait de l'immaturation enzymatique et de l'hémolyse physiologique aux premiers jours de la vie. Donc le taux de bilirubine augmente 24 à 48 heures après la naissance, avec un pic maximal aux 3e-4e jours suivi d'une diminution rapide et d'une disparition vers le 10e jour

IV. Valeurs de références :

Chez l'adulte :

	Taux Physiologique	
BILIRUBINE TOTALE	10 mg/L	17.1µmol/L
BILIRUBINE DIRECTE	3.5 mg/L	6µmol/L

(Bruno Baudin, 2017)

Les variations chez le nouveau-né : (bilirubine totale)

	A terme		Prématuré	
	mg/L	µmol/L	mg/L	µmol/L
Jour1	20-60	34-103	10-80	17-136
Jour2	60-100	103-171	60-120	103-205
Jour3-jour5	40-80	68-136	100-140	171-239

Variations pathologiques :

	mg/L	µmol/L
Coloration des conjonctivites à partir de :	30	50
Coloration de la peau A partir de :	60	100
Ictère nucléaire A partir de :	200	340

(Denis D ,1994)

V. Logiciel et Tests statistiques utilisés :

A. Les tests statistiques :

A.1. Test de student T :

Le test de student T s'applique lorsque l'objectif de l'étude est de comparer deux moyennes entre elles

► Condition d'application :

Les distributions des populations d'où sont issus les échantillons doivent être normales.

Les variances des deux populations d'où sont issus les échantillons doivent être supposées égales (réaliser le test de Fischer – snedecor pour le prouver)

► Hypothèse :

L'hypothèse nulle H_0 s'écrit $\{ \mu_1 = \mu_2 \}$ tandis que l'hypothèse alternative H_1 prend la forme $\{ \mu_1 \neq \mu_2 \}$ pour un test bilatéral et $\{ \mu_1 < \mu_2 \}$ ou $\{ \mu_1 > \mu_2 \}$ en fonction des renseignements préalables dont on dispose dans le cas d'un test unilatéral (**Jean Agneray, 2000**)

► Estimation :

- μ_1 de la population 1 est estimé par m_1 de l'échantillon 1.
- μ_2 de la population 2 est estimé par m_2 de l'échantillon 2.

Une fois prouvé l'égalité des variances, on peut calculer la variance commune :

$$S^2 = \frac{(n_1-1) S_1^2 + (n_2-1) S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}$$

► Paramètre T du test : il est déterminé à partir de la formule suivante

$$T = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{(s^2/n_1 + s^2/n_2)}}$$

A.2. Test de Fisher Snedecor F:

Test de l'homogénéité des variances dans le cas où le test concerne des variances d'échantillons calculées sur des nombres différents d'individus. .

► Conditions d'application :

Les distributions doivent être normales dans les deux populations d'où proviennent les deux échantillons.

► Hypothèse :

L'hypothèse nulle H_0 s'écrit $\{\delta_1 = \delta_2\}$ tandis que l'hypothèse alternative H_1 prend la forme

$\{\delta_1 \neq \delta_2\}$ pour un test bilatéral et $\{\delta_1 > \delta_2\}$ en fonction des renseignements préalables dont on dispose dans le cas d'un test unilatéral (**Jean Agneray, 2000**)

► Estimation :

δ_1 de la population 1 est estimé par S_1 de l'échantillon 1.

δ_2 de la population 2 est estimé par S_2 de l'échantillon 2.

► Paramètre du test : $F = S^2_1 / S^2_2$ Où $F = S^2_2 / S^2_1$

(La plus grande variance sur la plus petite)



Pour que le test F soit vérifié, la valeur du paramètre ne doit pas dépasser **3.02**

A.3. Test de corrélation :

↳ **Le coefficient r de corrélation linéaire :**

L'intensité de la liaison entre les deux variables X et Y dans l'échantillon est évaluée au moyen d'un indice, appelé coefficient r de corrélation linéaire de Pearson

Ce coefficient possède des propriétés intéressantes :

- Sa valeur est indépendante des unités dans lesquelles s'expriment X et Y
- Il prend ses valeurs dans l'intervalle $[-1 ; +1]$
- $r = \pm 1$ correspond à un cas extrême : les n points expérimentaux sont parfaitement alignés. La liaison linéaire entre X et Y est parfaite : elle est dite fonctionnelle.
- Plus r est proche de +1, plus les variables sont corrélées positivement ce qui signifie qu'à des valeurs élevées de X (ou Y) correspondent, en moyenne, des valeurs élevées de Y (ou X) et vice versa pour des valeurs faibles. Plus r est proche de -1, plus les variables sont corrélées négativement ce qui signifie qu'à des valeurs élevées de X (ou Y) correspondent, en moyenne, des valeurs faibles pour Y (ou X).
- Plus r est proche de 0, plus la liaison entre X et Y (si elle existe) est faible

B. Logiciel Statistica10 :

STATISTICA : est un système complet et intégré d'analyse des données, de représentation graphique, de gestion de bases de données, et de développement d'applications personnalisées, offrant une large gamme de procédures élémentaires ou avancées pour les sciences, le data mining, les affaires et les applications industrielles.

But : faire une corrélation linéaire entre les deux méthodes : méthode de DMSO et méthode jendressik –groft

CHAPITRE II : résultats

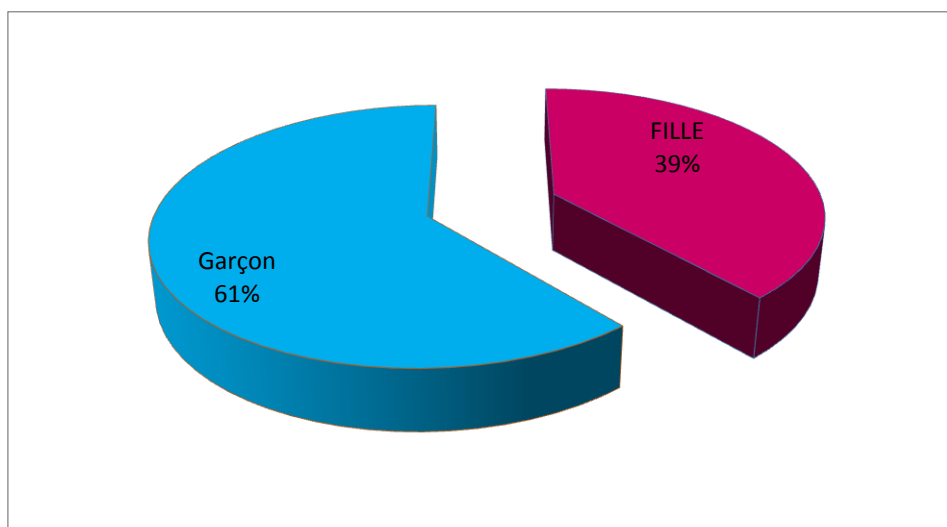
A. Résultat :

I. Etude épidémiologique :

I.1. Répartition de la population en fonction de l'âge :

Notre population, sont des nouveau-nés viennent du service de prévention de « Hassiba Benbouali » qui sont âgés de 24-48 h.

I.2. Répartition en fonction du sexe :



Secteur I : représentant la répartition de 114 nouveau-nés ictériques en fonction du sexe.

La répartition selon le sexe montre une prédominance masculine avec un pourcentage de 61% pour Les garçons, et 39 % pour les filles et un ratio de 1.59.

II. Etudes statistiques :

Pour apprécier la répétabilité et la reproductibilité des deux méthodes, on a procédé à les étudier selon les critères de standardisation.

L'étude de la répétabilité : L'essai de la répétabilité a été réalisée sur deux niveau de concentration (niveau I et niveau II), en réalisant 30 mesures de chaque niveau en une seule série, simultanément pour les deux techniques (technique au DMSO et technique jendrassik-groft caféine).

L'étude de la reproductibilité a été réalisée sur des sérums de contrôle à deux niveaux de concentration à raison d'un passage quotidien de 5 jours consécutifs.

II.1. Contrôle niveau I :

A. Bilirubine totale avec les deux méthodes :

A.1. Etude de la répétabilité : pour évaluer la répétabilité des deux méthodes, on a calculé les coefficients de variations pour les deux méthodes.

	Méthode DMSO	Méthode Jendrassik-Groft
Coefficient de variation %	7.13	5.45

Le coefficient de variation de la méthode Jendrassik-Groft (**5.45%**) est plus faible que le coefficient de variation de la méthode au DMSO. (**7.13%**)

A.2. Etude de reproductibilité : pour évaluer la reproductibilité des deux méthodes, on a calculé la variance chaque jour et la variance moyenne de 5 jours et le coefficient de variation pour les deux méthodes

	Jour 1	Jour 2	Jour 3	Jour 4	Jour 5	Var moyenne	CV%
Méthode DMSO	0.66	0.3	1.86	0.16	1.36	0.868	5.1
Méthode Jendrassik-Groft	2.16	0.4	1.67	2.3	0.66	1.438	5.01

A.3. Résultats des paramètres statistiques :

Méthode	Bilirubine totale
Moyenne	
Méthode DMSO	18.23
Méthode jendrassik	23.63

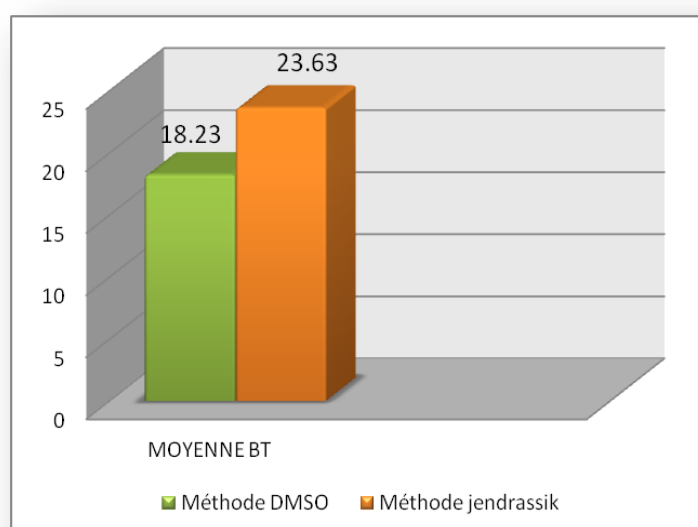


Tableau I /Histogramme I : Représentant les moyennes de la bilirubine totale dosées par les deux méthodes en réalisant 30 mesures sur des sérums de contrôle niveau I.

La moyenne de la bilirubine totale de contrôle niveau I dosée par la méthode Jendrassik (23.63) est plus élevée que celle dosé par la méthode DMSO. (18.23).

Pour appliquer les tests statistiques nécessaires, on a calculé les paramètres suivants :

Paramètre statistique	Méthode au DMSO	Méthode jendrassik-groft
Nombre d'essai	30	30
Variance	1.7	1.68
Moyenne	18.23	23.63
Ecart-type	1.3	1.29

A.4.Résultats des tests statistiques :

i. Test F de Fischer Snedecor:

↳ Paramètre du test \Rightarrow $F = S^2_1 / S^2_2$ ou $F = S^2_2 / S^2_1$ alors : **F = 1.008**

D'après la table de F :

Avec $\alpha = 0.05$ $F < 3.02$ alors on a : **1.008 < 3.02**, il y a égalité des variances donc : **test F vérifié**

ii. Test T de student :

♣ On applique test T :

Une fois prouvés l'égalité des variances, on peut calculer la variance commune S^2 : $S^2 = 1.695$

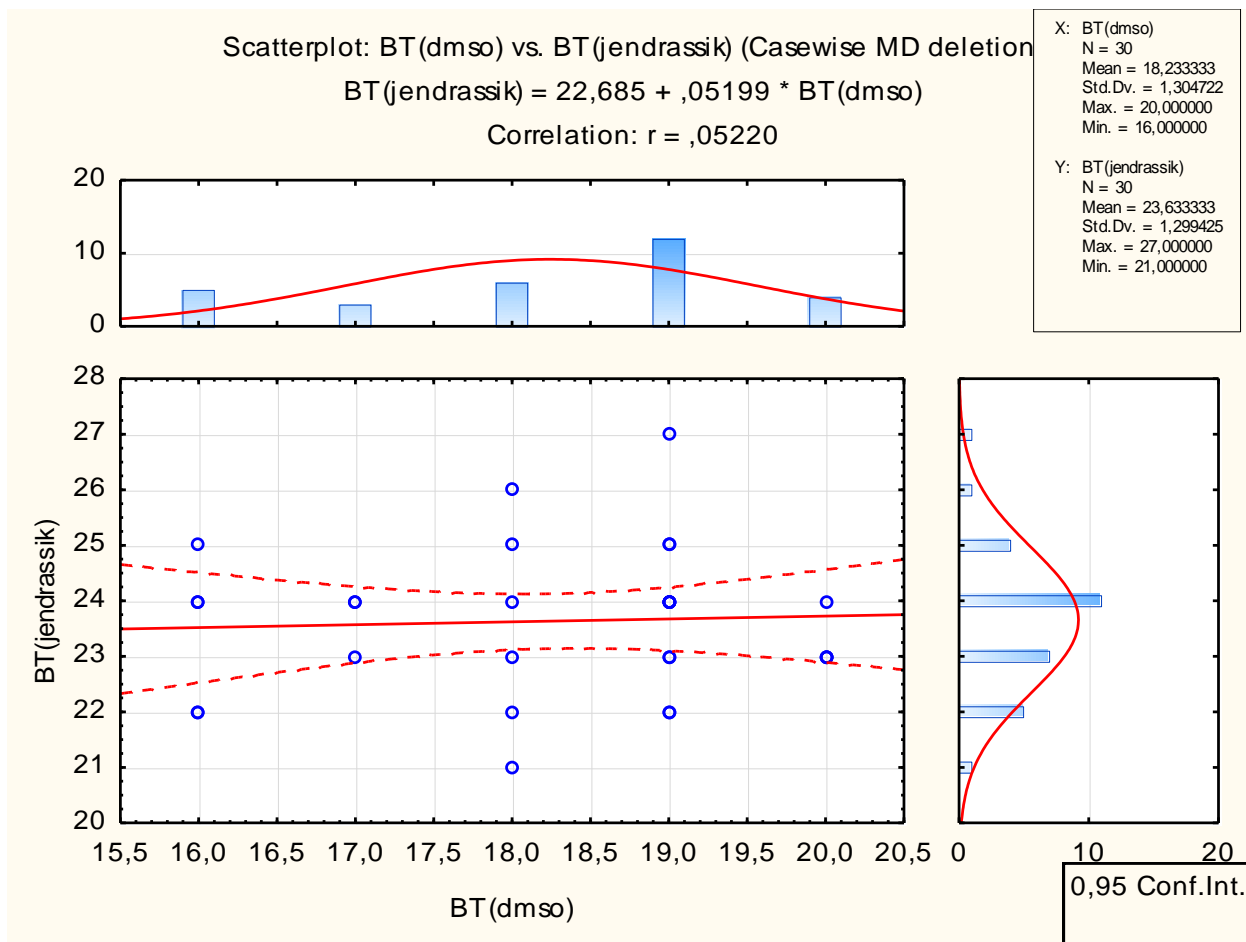
↳ Paramètre du test \Rightarrow $T = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{(s^2/n_1 + s^2/n_2)}}$ \Rightarrow $T = 16.36$

D'après la table de student : à $\alpha = 0.05$, le test $T_{0.05} = 1.96$ (voir annexe n° VII)

Lorsque $T_c = 16.36 > T_\alpha = 1.96$, on constate que la différence est significative, les 2 populations ont des moyennes différentes donc les deux méthodes sont différentes.

iii. La Corrélacion linéaire :

En utilisant le logiciel STATISTICA10, on a arrivé à effectuer une corrélation linéaire entre les deux méthodes.



Le graphe présente une discordance des points du nuage, avec un coefficient de corrélation :

r=0.05

B. Bilirubine directe par les deux méthodes :

B.1. Etude de la répétabilité : pour évaluer la répétabilité des deux méthodes, on a calculé les coefficients de variations pour les deux méthodes.

	Méthode au DMSO	Méthode Jendrassik-Groft
Coefficient de variation %	19.49	12.69

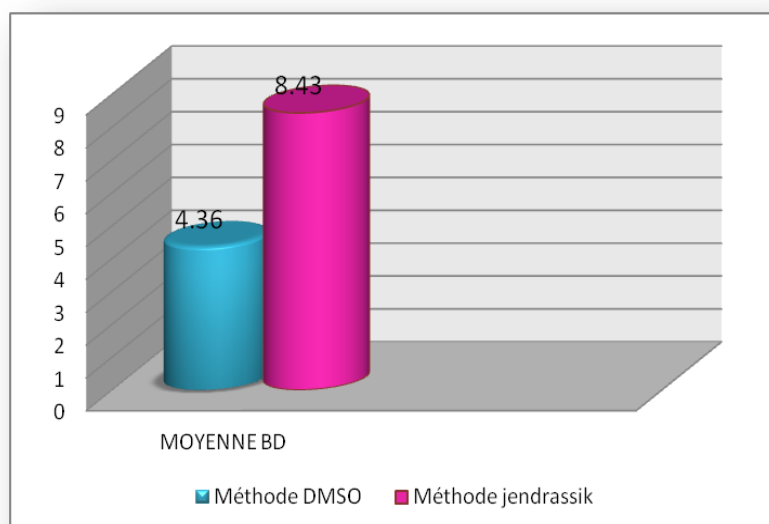
Le coefficient de variation de la méthode Jendrassik-Groft (**12.69%**) est plus faible que le coefficient de variation de la méthode au DMSO (**19.49%**).

B.2. Etude de reproductibilité : Pour évaluer la reproductibilité des deux méthodes, on a calculé la variance chaque jour et la variance moyenne de 5 jours et le coefficient de variation pour les deux méthodes :

	VAR J1	VAR J2	VAR J 3	VAR J 4	VAR J5	VAR moyenne	CV%
Méthode DMSO	0.26	0.3	1.06	0.66	0.8	0.616	17.8
Méthode Jendrassik-Groft	0.3	0.16	0.16	0.8	0.26	0.336	6.86

B.3. Résultats des paramètres statistiques :

Méthode	Bilirubine directe
Moyenne	
Méthode DMSO	4.36
Méthode jendrassik-groft	8.43



Histogramme II /Tableau II : représentant les moyennes de la bilirubine directe dosées par les deux méthodes en réalisant 30 mesures sur des sérums de contrôle niveau I.

La moyenne de la bilirubine totale dosée par la méthode jendrassik (**8.43**) est plus élevée que celle dosé par la méthode DMSO. (**4.36**).

-Pour appliquer les tests statistiques nécessaires, il doit calculer les paramètres statistiques suivants :

Paramètre statistique	Méthode au DMSO	Méthode jendrassik-groft
Nombre d'essai	30	30
Moyenne	4.36	8.43
Variance	0.72	1.15
Ecart-type	0.85	1.07

B.4.Résultats des tests statistiques:

i. Test F de Fischer Snedecor :

↳ Paramètre du test \Rightarrow $F = S^2_1 / S^2_2$ ou $F = S^2_2 / S^2_1$ alors : **F=1.59**

D'après la table de F :

Avec $\alpha = 0.05$ $F < 3.02$ alors on a : $1.59 < 3.02$, il y a égalité des variances donc : **test F vérifié.**

ii. Test T de student :

♣ On applique test T :

Une fois prouvés l'égalité des variances, on peut calculer la variance commune S^2 : $S^2=0.936$

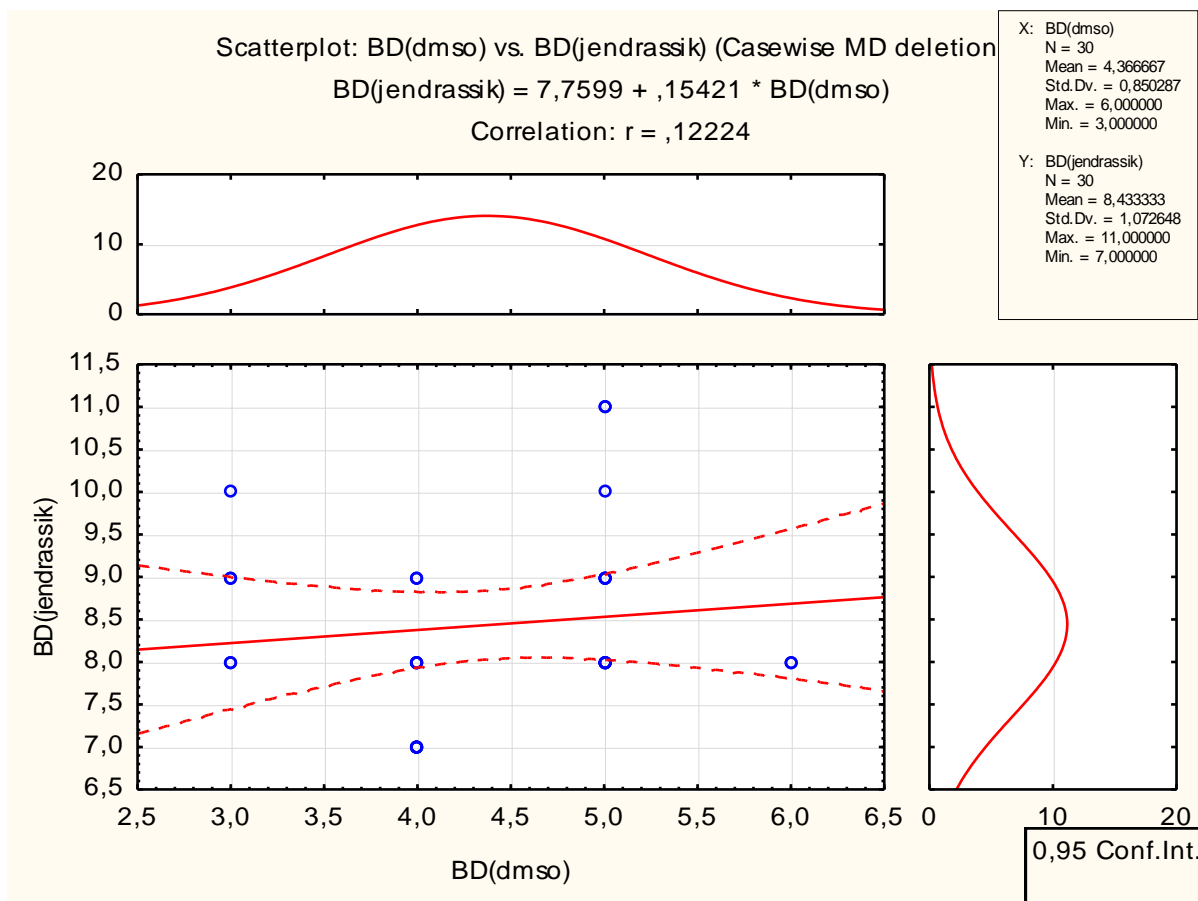
↳ Paramètre du test \Rightarrow $T = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{(s^2/n_1 + s^2/n_2)}}$ \Rightarrow $T=16.94$

D'après la table de student : à $\alpha = 0.05$, le test $T_{0.05} = 1.96$ (voir annexe n° VII)

Lorsque $T_c = 16.94 > T_{\alpha} = 1.96$, on constate que la différence est significative, les 2 populations ont des moyennes différentes donc les deux méthodes sont différentes.

iii. La corrélation linéaire :

En utilisant le logiciel STATISTICA8, on a arrivé à effectuer une corrélation linéaire entre les deux méthodes.



D'après l'observation graphique de cette corrélation, le nuage des points présente une courbure prononcée. Avec un coefficient de corrélation :

$r=0.12$

II.2. Contrôle niveau II :

A. Bilirubine totale par les deux méthodes :

A.1. étude de la répétabilité : pour évaluer la répétabilité des deux méthodes, on a calculé les coefficients de variations pour les deux méthodes.

	Méthode au DMSO	Méthode Jendrassik-Groft
Coefficient de variation %	8.84	7.94

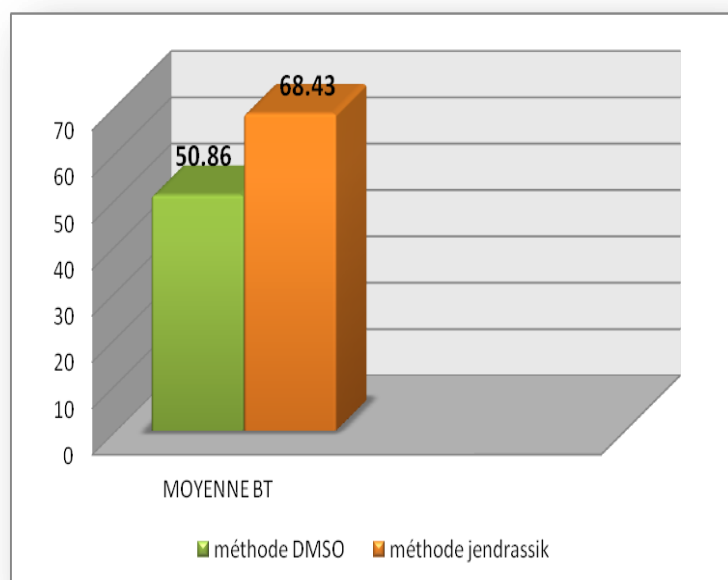
Le coefficient de variation de la méthode Jendrassik-Groft (**7.94%**) est plus faible que le coefficient de variation de la méthode au DMSO (**8.84%**).

A.2.étude de la reproductibilité : Pour évaluer la reproductibilité des deux méthodes, on a calculé la variance chaque jour et la variance moyenne de 5 jours et le coefficient de variation pour les deux méthodes :

	VAR J1	VAR J2	VAR J 3	VAR J 4	VAR J5	VAR moyenne	CV%
Méthode DMSO	10.96	40.26	15.76	3.76	1.36	3.79	7.45
Méthode Jendrassik-Groft	0.96	42.56	78.26	7.36	8.66	5.24	7.65

A.3. Résultats des paramètres statistiques :

Méthode	Bilirubine totale
Moyenne	
Méthode DMSO	50.86
Méthode Jendrassik –Groft	68.43



Histogramme III /Tableau III: représentant les moyennes de la bilirubine totale dosé par les deux méthodes en réalisant 30 mesures sur des sérums de contrôle niveau II.

La moyenne de la bilirubine totale dosée par la méthode jendrassik (**68.43**) est plus élevée que celle dosé par la méthode DMSO (**50.86**).

Pour appliquer les tests statistiques nécessaires, on doit calculer les paramètres statistiques suivants :

Paramètre statistique	Méthode DMSO	Méthode Jendrassik-Groft
Nombre d'essai	30	30
Moyenne	50.86	68.43
Variance	20.32	29.7
Ecart-type	4.5	5.44

A.4. Résultats des tests statistiques:

i. Test F de Fischer Snedecor :

Paramètre du test \Rightarrow $F = S^2_1 / S^2_2$ ou $F = S^2_2 / S^2_1$ alors : $F=1.46$

D'après la table de F :

Avec $\alpha = 0.05$ $F < 3.02$ alors on a : $1.46 < 3.02$, il y a égalité des variances donc : **test F vérifié**

ii. Test T de student :

♣ On applique test T :

Une fois prouvés l'égalité des variances, on peut calculer la variance commune S^2 :

$$S^2=25$$

Paramètre du test \Rightarrow

$$T = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{(s^2/n_1 + s^2/n_2)}}$$

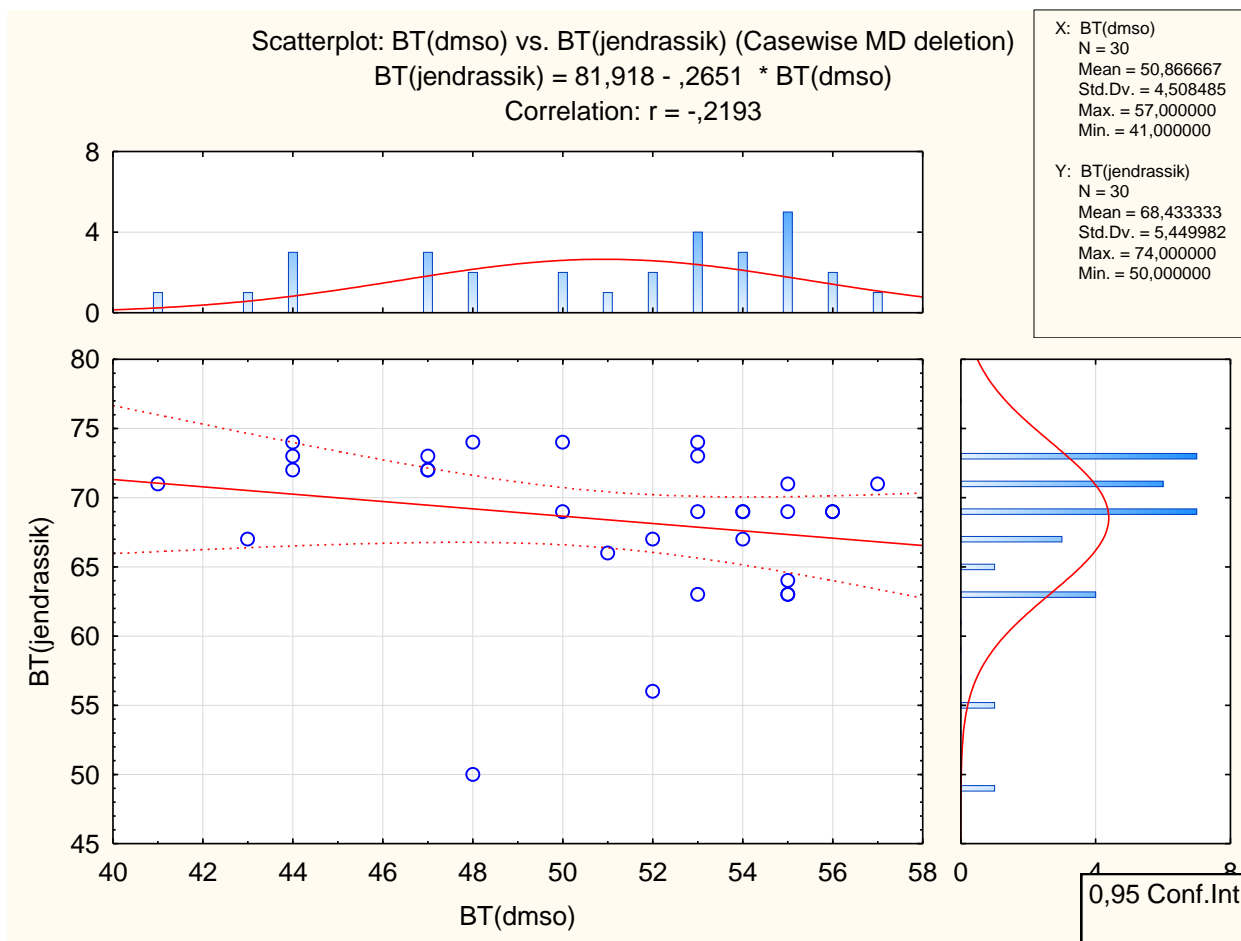
$$T=13.6$$

D'après la table de student : à $\alpha = 0.05$, le test $T_{0.05} = 1.96$ (voir annexe N° VII)

Lorsque $T_c = 13.6 > T_{\alpha} = 1.96$, on constate que la différence est significative, les 2 populations ont des moyennes différentes donc les deux méthodes sont différentes.

iii. La corrélation linéaire :

En utilisant le logiciel STATISTICA10, on a arrivé à effectuer une corrélation linéaire entre les deux méthodes.



D'après l'observation graphique de cette corrélation, le nuage des points présente une courbure prononcée. Avec un coefficient de corrélation :

r=0.21

B. La bilirubine directe par les deux méthodes :

B.1. Etude de la répétabilité : pour évaluer la répétabilité des deux méthodes, on a calculé les coefficients de variations pour les deux méthodes.

	Méthode DMSO	Méthode Jendrassik-Groft
Coefficient de variation %	9.79	10.29

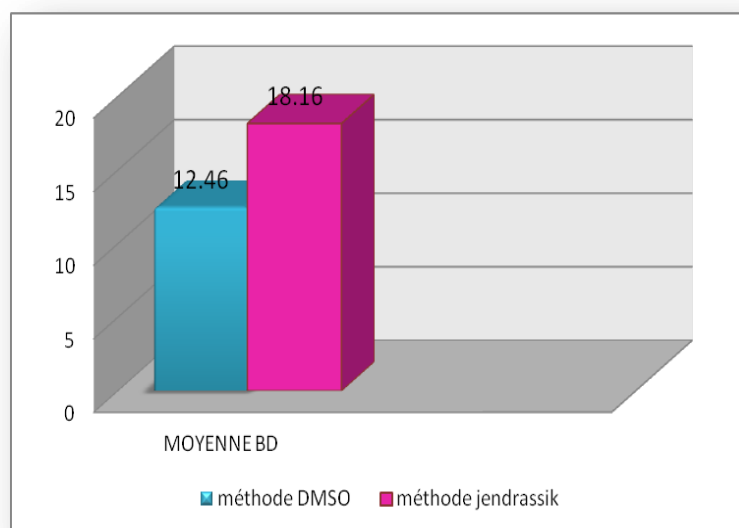
Le coefficient de variation de la méthode au DMSO (**9.79%**) est plus faible que le coefficient de variation de la méthode Jendrassik-groft (**10.29%**)

B.2. Etude de reproductibilité : Pour évaluer la reproductibilité des deux méthodes, on a calculé la variance chaque jour et la variance moyenne de 5 jours et le coefficient de variation pour les deux méthodes :

	VAR J1	VAR J2	VAR J 3	VAR J 4	VAR J5	VAR moyenne	CV%
Méthode DMSO	0.66	1.1	2.16	2.16	0.7	1.16	9.03
Méthode jendrassik-groft	0.66	6	0.66	1.06	1.36	1.39	7.65

B.3. résultats des paramètres statistiques :

Méthode	Bilirubine directe
Moyenne	
Méthode DMSO	12.46
Méthode jendrassik-groft	18.16



Histogramme IV /Tableau IV: représentant les moyennes de la bilirubine directe dosées par les deux méthodes en réalisant 30 mesures sur des sérums de contrôle niveau II.

La moyenne de la bilirubine totale dosée par la méthode jendrassik (**18.16**) est plus élevée que celle dosé par la méthode au DMSO (**12.46**)

Pour appliquer les tests statistiques nécessaires, on doit calculer les paramètres statistiques suivants :

Paramètre statistique	Méthode au DMSO	JENDRASSIK
Nombre des mesures	30	30
Moyenne	12.46	18.16
Variance	1.49	3.52
Ecart-type	1.22	1.87

B.4.Résultats des tests statistiques :

i. Test F de Fischer Snedecor :

↪ Paramètre du test \Rightarrow $F = S^2_1/S^2_2$ ou $F = S^2_2/S^2_1$ alors : $F=2.36$

D'après la table de F :

Avec $\alpha = 0.05$ $F < 3.02$ lorsque : $2.36 < 3.02$, il y a égalité des variances donc : **test F vérifié**

ii. Test T de student :

♣ On applique test T :

Une fois prouvés l'égalité des variances, on peut calculer la variance commune S^2 : $S^2=2,5$

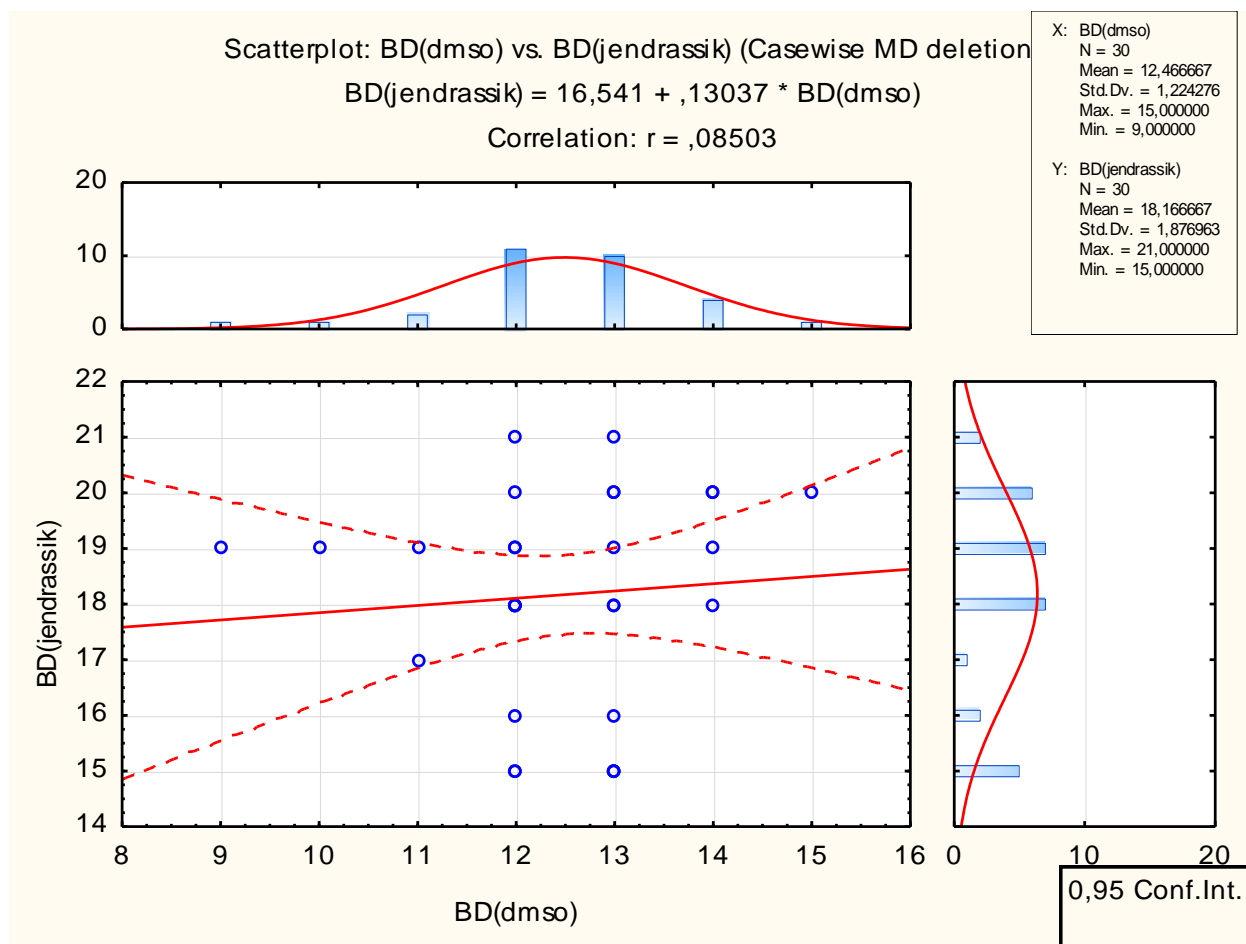
↪ Paramètre du test \Rightarrow $T = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{(s^2/n_1 + s^2/n_2)}}$ \Rightarrow $T=13.96$

D'après la table de student : à $\alpha = 0.05$, le test $T_{0.05} = 1.96$ (voir annexe N°VII)

Lorsque $T_c = 13.96 > T_\alpha = 1.96$, on constate que la différence est significative, les 2 populations ont des moyennes différentes donc les deux méthodes sont différentes.

iii. La corrélation linéaire :

En utilisant le logiciel STATISTICA10, on a arrivé à effectuer une corrélation linéaire entre les deux méthodes.



L'observation graphique montre qu'il y a une courbure prononcée du nuage des points, avec un coefficient de corrélation égal à :

$$r = 0.08$$

II.3. Population témoin :

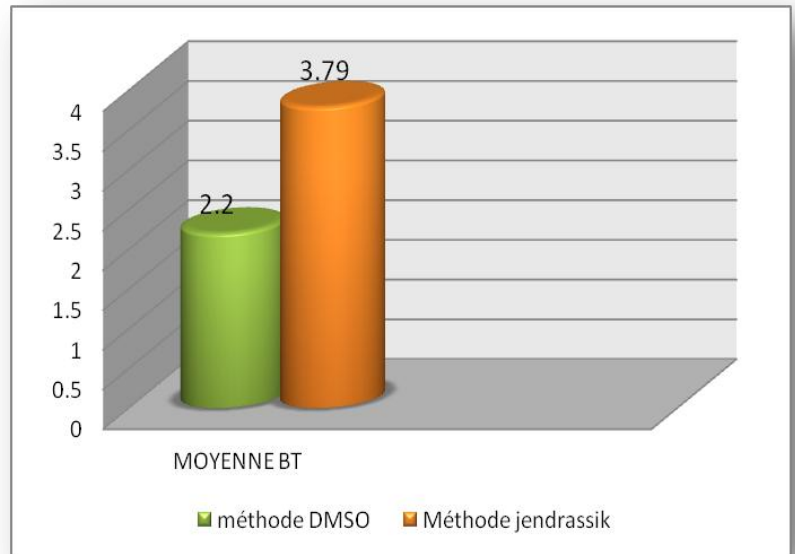
On a procédé au dosage de la bilirubine totale et directe par les deux méthodes chez une population témoin constituée de 34 personnes saines dont les valeurs des bilirubines sont dans l'intervalle de normalité.

On a appliqué les tests statistiques sur cette population pour comparer les deux méthodes lorsque les valeurs des bilirubines sont normales.

A. Bilirubine totale par les deux méthodes :

A.1. Etude des paramètres statistiques :

Méthode	Bilirubine totale
Moyenne	
Méthode DMSO	2.2
Méthode Jendrassik-Groft	3.79



Histogramme V / Tableau V : représentant les moyennes de la bilirubine totale dosées par les 2 méthodes chez 34 sujets sains.

Les valeurs de la bilirubine totale appartiennent à l'intervalle de la normalité $<10\text{mg/L}$ selon les deux méthodes, mais la moyenne de la bilirubine dosée par la méthode Jendrassik-Groft (**3.79**) est plus élevée par rapport à la moyenne trouvée (**2.2**) par la méthode au DMSO.

Pour appliquer les tests statistiques nécessaires, on doit calculer les paramètres statistiques suivants :

Paramètre statistique	Méthode DMSO	Méthode Jendrassik-Groft
Nombre des témoins	34	34
Moyenne	2.2	3.79
Variance	0.83	1.68
Ecart type	0.91	1.29

A.2. Résultats des tests statistiques :

i. Test F de Fischer Snedecor:

Paramètre du test \Rightarrow $F = S^2_1 / S^2_2$ ou $F = S^2_2 / S^2_1$ lors : **F=2.02**

D'après la table de F :

Avec $\alpha = 0.05$ $F < 3.02$ lorsque : $2.02 < 3.02$, il y a égalité des variances, donc : **test F vérifié.**

ii. Test T de student :

♣ On applique test T :

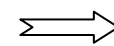
Une fois prouvés l'égalité des variances, on peut calculer la variance commune S^2 :

$$S^2 = 1.25$$

↪ Paramètre du test



$$T = \frac{m1 - m2}{\sqrt{(s^2/n1 + s^2/n2)}}$$



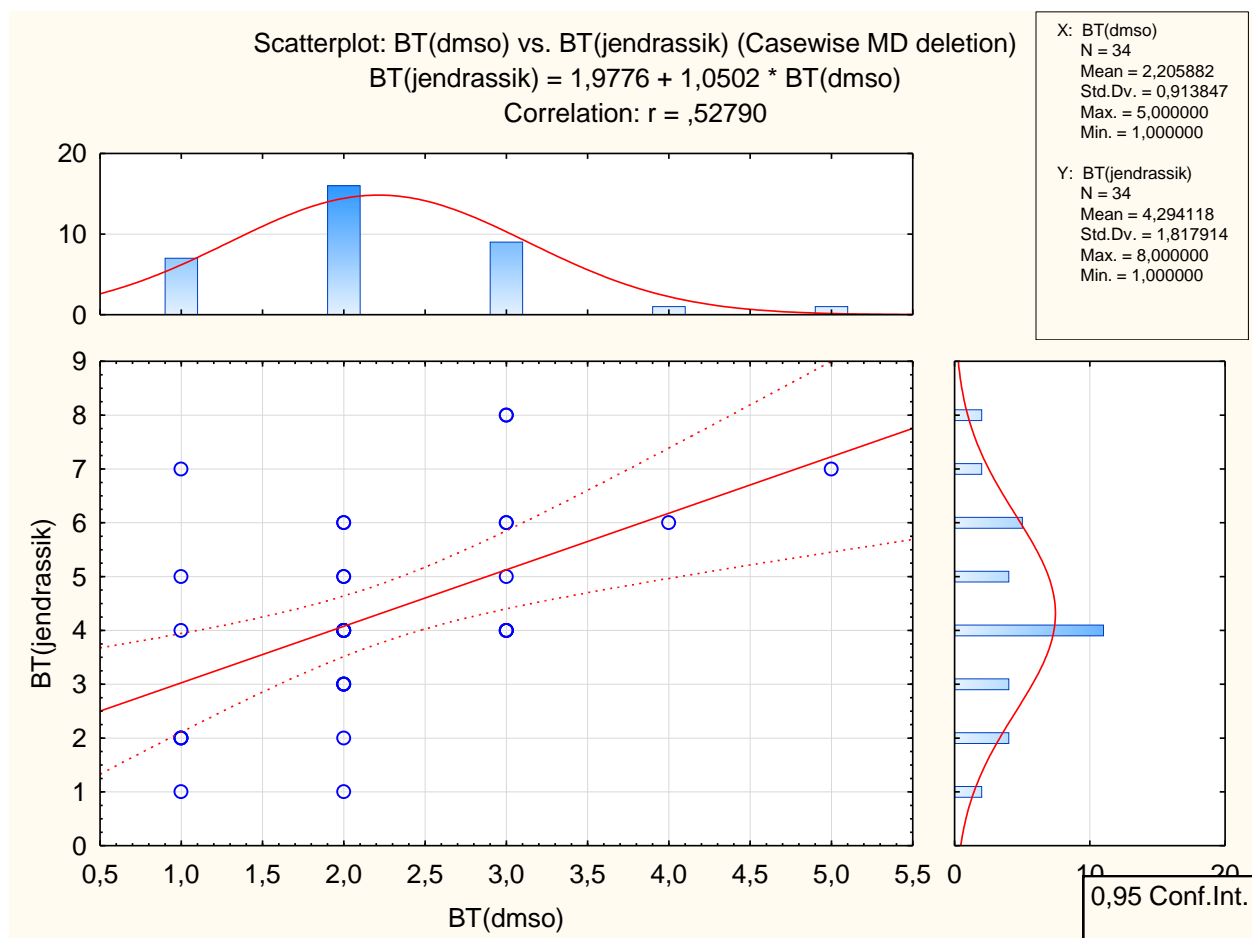
$$T = 9.35$$

D'après la table de student : à $\alpha = 0.05$, le test $T_{0.05} = 1.96$ (voir annexe N°VII)

Lorsque $T_c = 9.35 > T_{\alpha} = 1.96$, on constate que la différence est significative, les 2 populations ont des moyennes différentes donc les deux méthodes sont différentes

iii. La corrélation linéaire :

En utilisant le logiciel STATISTICA10, on a arrivé à effectuer une corrélation linéaire entre les deux méthodes.



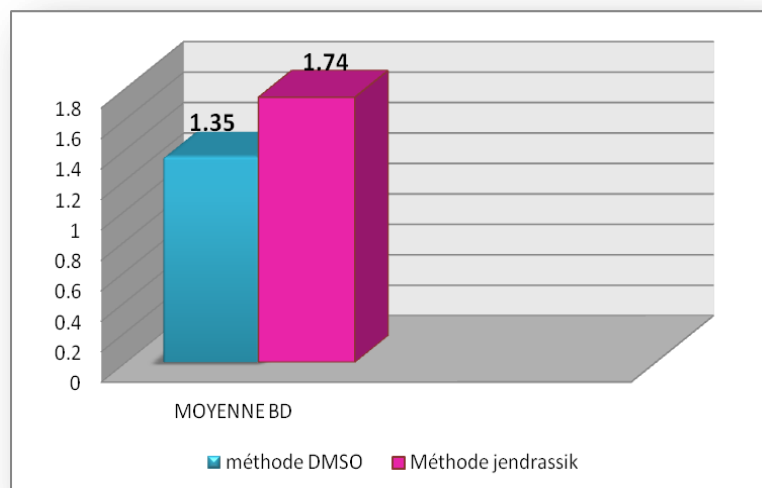
Le graphique montre que les points se regroupent sous forme d'un nuage plus au moins allongé avec présence de quelques points isolés un coefficient de corrélation égal à :

$$r = 0.52$$

B. Bilirubine directe par les deux méthodes :

B.1. étude des paramètres statistiques :

Méthode	Bilirubine directe
Moyenne	
Méthode DMSO	1.35
Méthode jendrassik	1.74



Histogramme VI/Tableau VI : représentant les moyennes de la bilirubine directe dosées par les 2 méthodes chez 34 sujets sains

Les valeurs de la bilirubine directe appartiennent à l'intervalle de la normalité $<4\text{mg/L}$ selon les deux méthodes, mais la moyenne de la bilirubine dosée par la méthode jendrassik-groft (**1.74**) est plus élevée par rapport à la moyenne trouvée par la méthode au DMSO (**1.35**).

Pour appliquer les tests statistiques nécessaires, on doit calculer les paramètres statistiques suivants :

Paramètre statistique	Méthode DMSO	Méthode Jendrassik-Groft
Nombre des malades	34	34
Moyenne	1.35	1.74
Variance	0.23	0.18
Ecart type	0.48	0.43

A.2. Résultats des tests statistiques :

i. Test F de Fischer Snedecor:

Paramètre du test $t \Rightarrow F = S^2_1 / S^2_2$ ou $F = S^2_2 / S^2_1$ alors : $F=1.27$

D'après la table de F :

Avec $\alpha = 0.05$ $F < 3.02$ lorsque : $1.27 < 3.02$, il y a égalité des variances, donc : **test F vérifié**

ii. Test T de student :

♣ On applique test T :

Une fois prouvés l'égalité des variances, on peut calculer la variance commune S^2 :

$$S^2 = 0.2$$

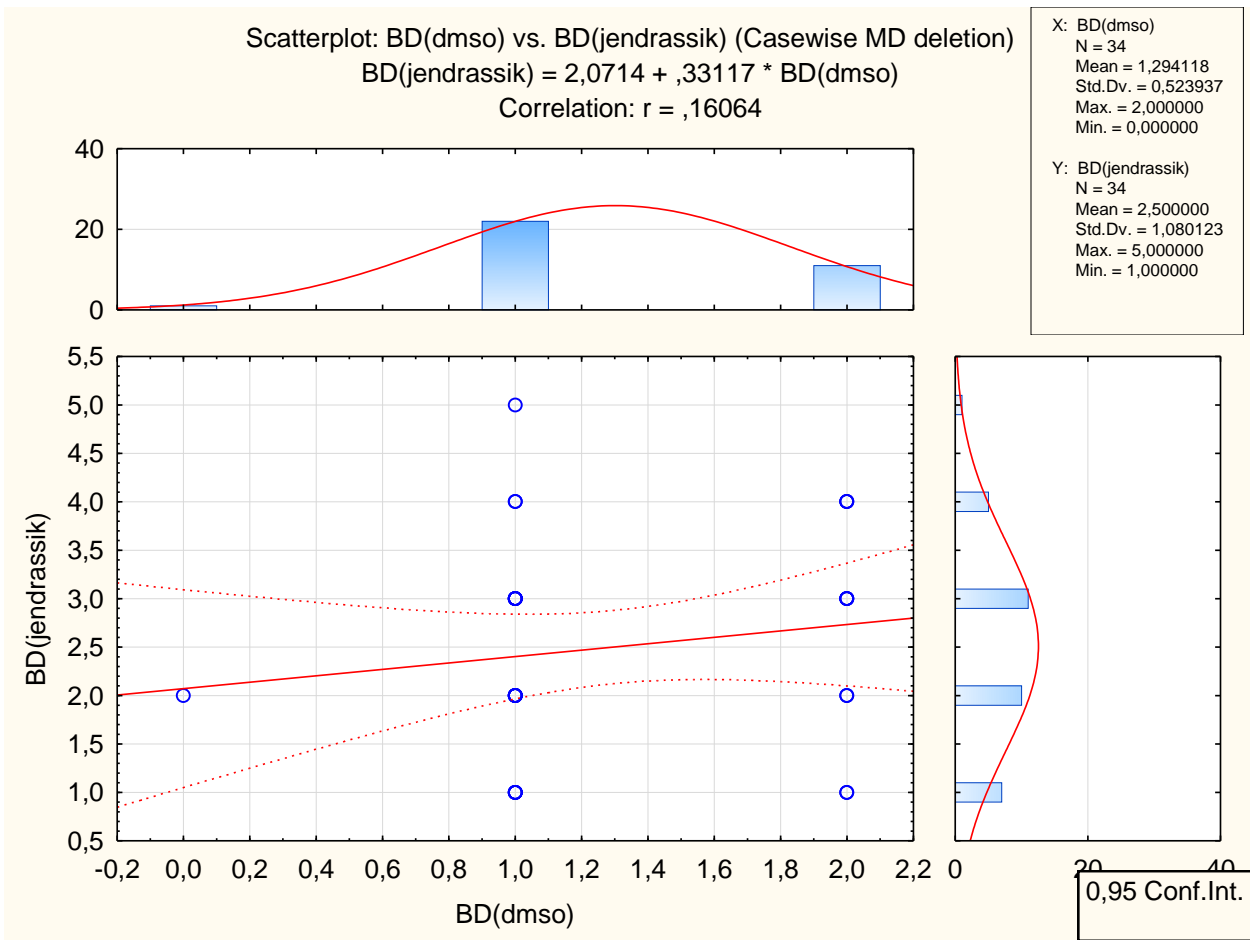
Paramètre du test $\Rightarrow T = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{(s^2/n_1 + s^2/n_2)}} \Rightarrow T = 2.27$

D'après la table de student : à $\alpha = 0.05$, le test $T_{0.05} = 1.96$ (voir annexe n°VII)

Lorsque $T_c = 2.27 > T_\alpha = 1.96$, on constate que la différence est significative, les 2 populations ont des moyennes différentes donc les deux méthodes sont différentes.

iii. La corrélation linéaire :

En utilisant le logiciel STATISTICA10, on a arrivé à effectuer une corrélation linéaire entre les deux méthodes.



D'après la représentation graphique, le nuage des points présente une discordance prononcée avec un coefficient de corrélation égal à :

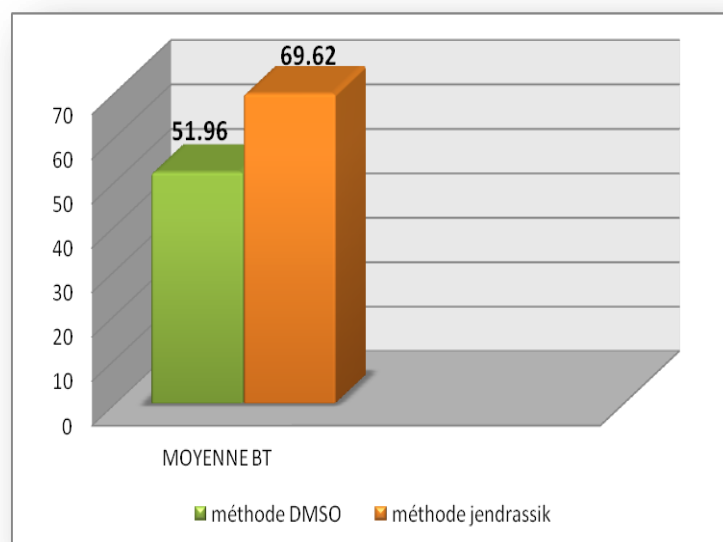
$r = 0.16$

III.4. Population malades :

A. La bilirubine totale par les deux méthodes :

A.1. étude des paramètres statistiques :

Méthode	Bilirubine totale
Moyenne	
Méthode DMSO	51.96
Méthode Jendrassik-Groft	69.62



Histogramme VII /Tableau VII : représentant les moyennes de la bilirubine totale par les 2 méthodes chez 114 nouveau-nés ictériques

La moyenne de la bilirubine totale dosée par la méthode jendrassik (**69.62**) est plus élevée que celle dosé par la méthode de DMSO. (**51.96**).

Pour appliquer les tests statistiques nécessaires, on doit calculer les paramètres statistiques suivants :

Paramètre statistique	Méthode au DMSO	Méthode jendrassik-groft
Nombre des nouveau-nés	114	114
Moyenne	51.96	69.62
Variance	837	1367.52
Ecart type	28.93	36.98

A.2. Résultats des tests statistiques :

i. Test F de Fischer Snedecor:

↳ Paramètre du test $t \Rightarrow F = S^2_1 / S^2_2$ ou $F = S^2_2 / S^2_1$ alors : $F = 1.63$

D'après la table de F :

Avec $\alpha = 0.05$ $F < 3.02$ lorsque : $1.63 < 3.02$, il y a égalité des variances, donc : **test F vérifié**

ii. Test T de student :

♣ On applique test T :

Une fois prouvés l'égalité des variances, on peut calculer la variance commune S^2 : $S^2 = 1102.$

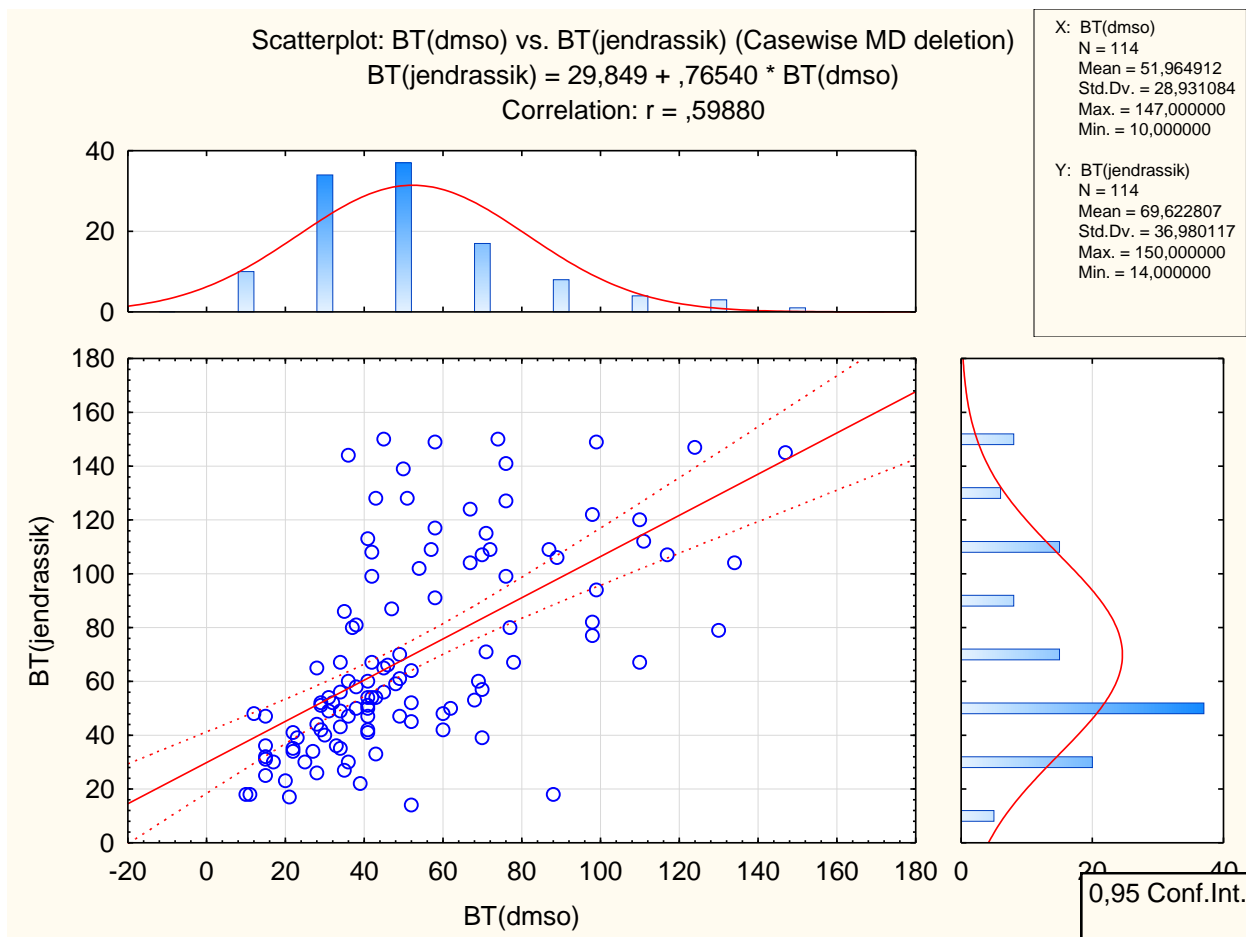
↳ Paramètre du test $\Rightarrow T = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{(s^2/n_1 + s^2/n_2)}} \Rightarrow T = 4.01$

D'après la table de student : à $\alpha = 0.05$, le test $T_{0.05} = 1.96$ (voir annexe N°VII)

Lorsque $T_c = 4.01 > T_\alpha = 1.96$, on constate que la différence est significative, les 2 populations ont des moyennes différentes donc les deux méthodes sont différentes.

iii. La corrélation linéaire :

En utilisant le logiciel STATISTICA10, on a arrivé à effectuer une corrélation linéaire entre les deux méthodes.



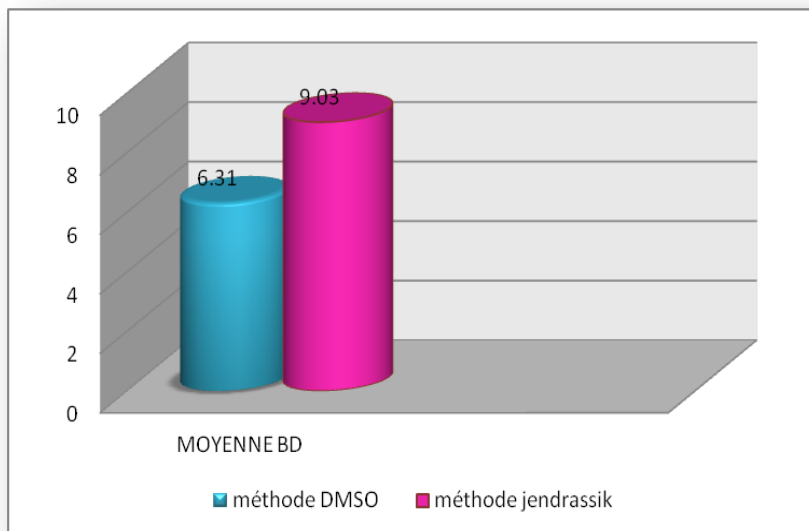
La présentation graphique montre que les points se regroupent sous forme d'un seul nuage plus au moins allongée, en présence de quelques points isolés, avec un coefficient de corrélation égal à :

$r = 0.59$

B. Bilirubine directe par les deux méthodes :

B.1.étude des paramètres statistiques :

Méthode	Bilirubine directe
Moyenne	
Méthode DMSO	6.31
Méthode Jendrassik-Groft	9.03



Histogramme VII /Tableau VII : représentant les moyennes de la bilirubine directe dosées par les 2 méthodes chez 114 nouveau-nés ictériques.

La moyenne de la bilirubine totale dosée par la méthode jendrassik-groft (**9.03**) est plus élevée que celle dosé par la méthode au DMSO (**6.31**).

Pour appliquer les tests statistiques nécessaires, il est nécessaire calculé les paramètres statistique suivants :

Paramètre statistique	Méthode au DMSO	Méthode jendrassik-groft
Nombre des nouveau-nés	114	114
Moyenne	8.99	6.31
Variance	50.38	22.73
Ecart type	7.09	4.76

B.2.Résultats des tests statistiques :

i. Test F de Fischer Snedecor:

↳ Paramètre du tes t \Rightarrow $F = S^2_1 / S^2_2$ ou $F = S^2_2 / S^2_1$ alors : **F=2.21**

D'après la table de F :

Avec $\alpha = 0.05$ $F < 3.02$ lorsque : $2.21 < 3.02$, il y a égalité des variances donc : **test F vérifié**

ii. Test T de student :

♣ On applique test T :

Une fois prouvés l'égalité des variances, on peut calculer la variance commune S^2 :

$$S^2=36.5$$

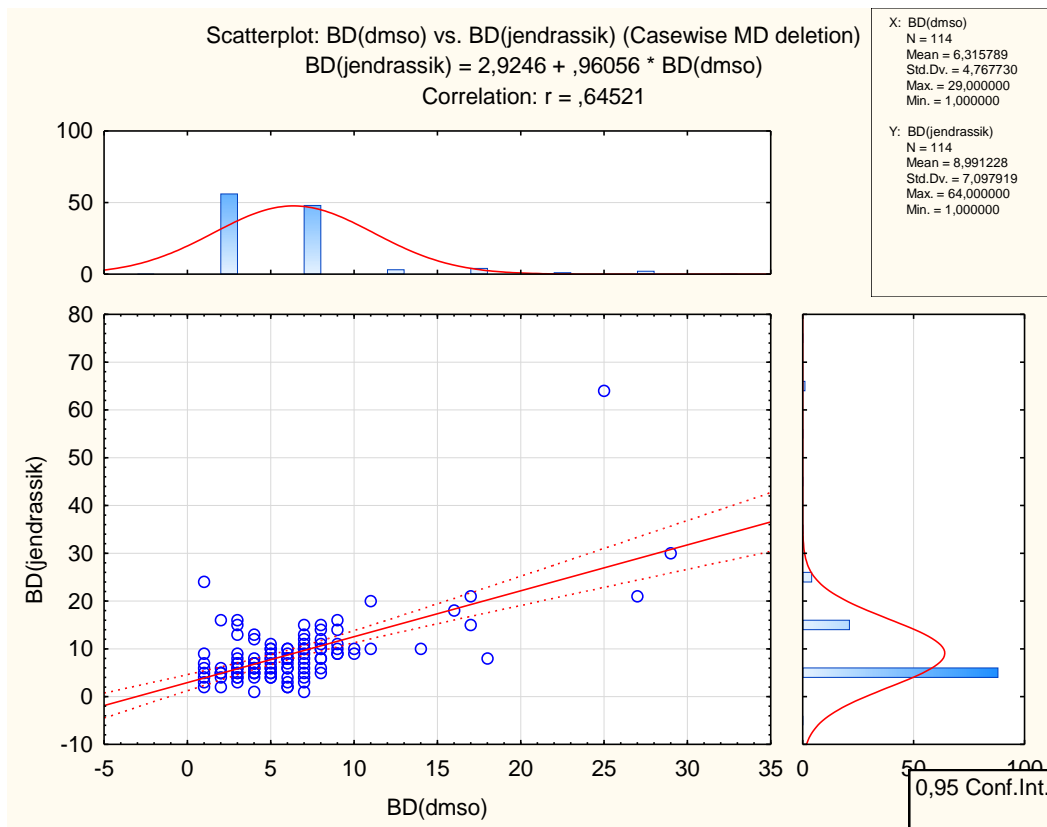
↳ Paramètre du test \Rightarrow $T = \frac{m_1 - m_2}{\sqrt{(s^2/n_1 + s^2/n_2)}}$ \Rightarrow **T=3.34**

D'après la table de student : à $\alpha = 0.05$, le test $T_{0.05} = 1.96$ (voir annexe N°VII)

Lorsque $T_c = 3.34 > T_{\alpha} = 1.96$, on constate que la différence est significative, les 2 populations ont des moyennes différentes donc les deux méthodes sont différentes.

iii. La corrélation linéaire :

En utilisant le logiciel STATISTICA10, on a arrivé à effectuer une corrélation linéaire entre les deux méthodes.



La présentation graphique montre que les points se regroupent sous forme d'un seul nuage plus au moins allongée, en présence de quelques points isolés, avec un coefficient de corrélation égal à :

$$r = 0.64$$

B. Discussion :

Avant d'entamer la discussion, il est impératif de rappeler l'importance du dosage de la bilirubine chez le nouveau-né, vu que c'est la population la plus exposée à des valeurs élevées de la bilirubine due à plusieurs causes, parmi lesquelles l'ictère physiologique qui est dû à l'immaturation hépatique ce qui compromet la destinée normale de la bilirubine.

La bilirubine est en fait glucuroconjuguée par la bilirubine UDP glucuronosyltransferase (BGT), cette enzyme n'est mature qu'à partir de l'âge de 3 mois (*Myara, 2003*).

Cette immaturité entraîne une augmentation de la concentration de la bilirubine indirecte qui est une molécule potentiellement toxique en raison de sa liposolubilité, en effet elle se fixe sur les noyaux gris centraux si sa capacité de transport par l'albumine est dépassée (*Myara, 2003*).

Le risque principal d'une hyperbilirubinémie non conjuguée est donc la survenue d'une encéphalopathie bilirubinique ou « ictère nucléaire », conduisant parfois à de graves séquelles neurologiques (surdité, retard intellectuel).

Différentes méthodes (méthode par oxydation, méthode par spectrométrie directe, méthodes par diazoreaction) existent sur le marché permettent de mesurer la concentration de la bilirubine afin d'apprécier l'intensité de l'ictère et d'en préciser l'étiologie par la distinction des formes conjuguées et non conjuguées de la bilirubine.

L'Objectifs de notre travail est de Comparer deux réactifs de dosage de la bilirubine, qui utilisent deux accélérateurs différents, la caféine comme accélérateurs de la méthode Jendrassik-Groft et le Diméthylsulfoxyde comme accélérateurs de la deuxième méthode en étudiant la répétabilité et la reproductibilité des deux réactifs.

L'âge de la population étudiée est compris entre **24-48 h**, avec une prédominance masculine évidente (**61 %** pour les garçons et un pourcentage de **39%** pour les filles)

Ce ci peut être expliqué par le nombre majoritaire des garçons durant la période de notre étude et ne reflète pas l'exposition spécifique du sexe masculin à l'ictère.

A fin de permettre la validation des deux méthodes, on a commencé par l'étude de la répétabilité et de la reproductibilité des deux réactifs (*Gobert de Paepe E, 2007*).

L'étude de la répétabilité a permis de démontrer que la méthode Jendrassik-Groft est plus répétable pour la bilirubine totale et ce quelque soit le niveau de contrôle utilisé (contrôle niveau 1 et contrôle niveau 2).

En effet le coefficient de variations avec la méthode Jendrassik-groft est égal à **5.45 %** alors qu'il est égal à **7.13 %** avec la méthode DMSO pour le contrôle niveau I.

Pour le contrôle niveau II qu'il est de **7.94 %** avec la méthode jendrassik et **8.84 %** avec la méthode DMSO (*Gobert de Paepe E ,2007*).

Concernant la bilirubine directe, la méthode jendrassik est également plus répétable pour le contrôle niveau I (CV **12.69%** pour jendrassik et **19.49%** pour la DMSO), alors que pour le contrôle niveau II le contraire est observé (CV=**10.29 %** pour Jendrassik et CV=**9.79 %** pour DMSO). Ce résultat peut être expliqué par une erreur lors de la préparation d'un des réactifs de jendrassik (en effet tous les réactifs de cette méthode sont préparés manuellement au niveau du laboratoire) soit par une mauvaise conservation des réactifs, ou bien même une erreur lors de la manipulation et de la lecture par le spectrophotomètre.

- L'étude de la reproductibilité a montré des coefficients de variation de la bilirubine totale presque égaux pour les deux méthodes et ce quelque soit le niveau de contrôle utilisé (**5.1%** pour la méthode DMSO, **5.01%** pour la méthode Jendrassik-Groft pour niveau I et **7.45 %** Pour la méthode DMSO et **7.65 %** la méthode Jendrassik-Groft pour le contrôle niveau II).

Donc les deux méthodes sont reproductibles avec les deux types de réactifs pour la bilirubine totale.

L'étude du coefficient de variation de la bilirubine directe a retrouvé une valeur faible avec la méthode jendrassik par rapport à la méthode DMSO (pour le contrôle niveau I : CV= 6.68% par la jendrassik et CV= 17.8% par la DMSO et pour le contrôle niveau II CV= 7.65% par la jendrassik et CV= 9.03% par la DMSO). Vu que les accélérateurs ne sont pas impliqués dans les 2 analyses, ce ci peut être également expliqué soit par des erreurs pré-analytiques ou analytiques.

- Les résultats des tests statistiques par l'utilisation de test de student et Fischer qui permettent de comparer les deux réactifs ont permis de retrouver une différence significative entre les deux réactifs pour les 114 nouveau-nés.

Cette différence a été confirmée lorsque ces tests ont été appliqués sur une population témoin dont le taux de la bilirubine totale et directe sont normaux mais également sur les deux types de population de contrôle (niveau I et niveau II).

En effet la valeur du paramètre T du test de student est supérieure à $T\alpha=1.96$ (voir annexe n° VII) pour les deux type de contrôle et les deux types de populations (population témoin et malade) en fixant le risque d'erreur à 5 %.

Pour le contrôle niveau I, Le $Tc(BT)=16.36$ pour la bilirubine totale, et il est égale à $Tc(BD)=16.94$ pour la bilirubine directe, ces deux valeurs sont nettement supérieurs à $T\alpha=1.96$.

Pour le contrôle niveau II, $Tc(BT)=13.60$ pour la bilirubine totale, $Tc(BD)=13.96$ pour la bilirubine directe, des valeurs également supérieurs à $T\alpha=1.96$.

Donc la différence significative entre les deux réactifs est confirmée (Jean Agneray, 2000).

La population témoin dont les valeurs des deux bilirubines sont dans l'intervalle de normalité également subi les deux tests. La différence significative est également confirmée.

En effet les valeurs du paramètre T est nettement supérieurs a 1.96 pour les deux type de bilirubine ($Tc(BT)=9.35$ pour la bilirubine totale, $Tc(BD)=2.27$ pour la bilirubine directe).

Quant la population malade, $Tc(BT)=4.01$ pour la bilirubine totale et $Tc(BD)=3.34$ pour la bilirubine directe, pour les deux réactifs .La différence significative est donc évidente.

- On a fini notre travail par la recherche d'une corrélation entre les deux réactifs sur les quatres types de population en utilisant le test de corrélation linéaire effectué par un logiciel adapté « Statistica 10 », ce test permet de rechercher un indice appelé coefficient r de corrélation linéaire de Pearson, plus r est proche de 0 plus la corrélation est faible.

Les valeurs de r retrouvées pour la population témoin pour les deux types de bilirubine est faible (pour la bilirubine totale $r=0.52$, pour la bilirubine directe $r=0.16$). Quant à la population malade les valeurs de ce paramètre statistique est également revenu faible pour les deux types de bilirubine. Le coefficient $r =0.59$ pour la bilirubine totale et $r=0.64$ pour la bilirubine directe.

Ces résultats démontrent qu'il existe une faible corrélation entre les deux types de réactifs pour les deux types de bilirubine.

- D'autre part l'étude des valeurs de la bilirubine totale et directe données par les deux réactifs a révélé que les taux des deux bilirubines avec la méthode de Jendrassik-Groft sont plus élevés par rapport a ceux donnés par la méthode DMSO.

Cette constatation a été prouvée sur les deux niveaux de contrôle (I et II) et sur la population témoin et malade. Mais les résultats des contrôles des deux réactifs étaient meilleurs avec la méthode de Jendrassik-Groft, les valeurs retrouvées étaient incluses dans l'intervalle de référence. Les valeurs des deux contrôles retrouvées avec la méthode DMSO par contre étaient en dessous de la limite inférieure de l'intervalle de référence.

- Et pour clôturer cette discussion, et vu les résultats obtenus par cette étude en faveur d'une différence significative entre les deux réactifs et en faveur d'une meilleure fiabilité des résultats de la méthode de Jendrassik-Groft, on peut dire que cette dernière est la méthode à adapter et à préconiser pour le dosage de la bilirubine totale chez le nouveau-né.

Conclusion

Le dosage de la bilirubine chez le nouveau-né est d'un grand intérêt analytique, il permet de déterminer la valeur à partir de laquelle la photothérapie ou l'exsanguino-transfusion sont indiqués. Plusieurs réactifs sont disponibles sur le marché mais tous ne sont pas fiables.

Cette étude a permis de comparer deux réactifs de dosage de la bilirubine totale qui utilisent des accélérateurs différents, ce sont la méthode Jendrassik-groft qui utilise la caféine comme accélérateur et la méthode DMSO qui libère la bilirubine non conjuguée de l'albumine avant son dosage.

Cette comparaison a été faite sur les deux niveaux de contrôles normaux et pathologiques, sur une population témoin de 34 personnes ayant un taux de la bilirubine normale et sur une population de 114 nouveau-nés ictériques recruté au niveau du service de prévention de l'unité mère-enfant Hassiba Benbouali de CHU de Blida.

On a procédé pour cela à une étude statistique basée sur différents tests : Fischer, student et test de corrélation. Les résultats de ce travail ont démontré que les deux réactifs sont très faiblement corrélés.

Il est à noter tout de même que les concentrations des bilirubines avec la méthode Jendrassik-groft sont plus fiables. En effet, les valeurs des deux types de contrôle sont dans l'intervalle de référence avec la méthode jendrassik-groft alors qu'elles sont inférieures à l'intervalle de références avec l'autre méthode. Il est donc préférable voire impératif de doser la bilirubine totale avec la méthode de Jendrassik-groft.

Bibliographie

Livres:

- ↻ **Jean Agneray ,P Bourlioux ,Christian Doutremepuich ,R Farinotti ,M Pays** ,sciences mathématiques , physiques et chimiques, 2^e édition, groupe liaison santé, 2000
- ↻ **Audigié Claude et Zonszain François**, biochimie métabolique, 3^e édition, Doin édition, 1995
- ↻ **Batigne Stéphane, Bourbonnière Josée, Fredette Nathalie**, Le Corps humain : comprendre notre organisme et son fonctionnement, Québec Amérique inc, 2008, p : 110
- ↻ **Jean-Pierre Benhamou, Serge Erlinger**, maladies du foie et des voies biliaires, 5e édition médecine-science Flammarion, 2008
- ↻ **Vincent Delmas, D.Bremond-Gignac, R.Douard, S.Dupont, C.Latrémouille, J.M.Le Minor, N.Pirro, P.Sebe, C.Vacher, R.Yiou**, Anatomie générale, Elsevier Masson, 2008,
- ↻ **Denis doré**, biochimie clinique, édition Maloine ,1994
- ↻ **J.Frexinos**, hépato-gastro-entérologie clinique, 4^e édition, Simep, 1991
- ↻ **Harper, Murray RK, Granner D, Rodwell V**, Biochimie de Harper, 3 éditions de boeck université ,2008.p:287.288.289
- ↻ **Jacques Quevauvilliers**, Dictionnaire Médical avec atlas anatomique, 6e édition, Elsevier Masson S.A.S. 2009
- ↻ **Pierre Valdiguié**, biochimie clinique ,2^e édition, médicale internationale, 2000
- ↻ **S.Silbernagl et A.Dispopoulos**, Atlas de poche de physiologie, 3^e édition, Médecine-Sciences Flammarion, 2001 p : 248, 250, 226,
- ↻ **S.Silbernagl et Florian Lang**, Atlas de poche de physiopathologie, 1^e édition, Médecine-Sciences Flammarion, 2000, p : 134.
- ↻ **Sherwood**, physiologie humaine, 2^e édition, De Boeck université, 2008
- ↻ **Waugh Anne et Grant Allison**, anatomie et physiologie normale et pathologique, 12^e édition, Elsevier Masson 2015, p : 332-333 -339.

Sites internet :

- ⊕ **Brigitte Bader-Meunier, Corinne Guitton, Gil Tchernia**, 2007 :
<http://www.orpha.net/data/patho/Pub/fr/SpherocytoseHereditaire-FRfrPub3252v01.pdf>
- ⊕ **V. Barbu, C.Corpechot**, 2010 :
http://www.orpha.net/consor/cgi-bin/OC_Exp.php?Lng=FR&Expert=234
- ⊕ **Ciacio Oriana et Castaing Denis**, 2015 :
<http://www.centre-hepato-biliaire.org/maladies-foie/anatomie-foie.html>

⊕ **Lebau Jean-Pierre**, 2010 :

<http://www.docteurcliv.com/encyclopedie/canal-choledeque.aspx>

⊕ **Jacqueline Rossant-Lumbroso, Lyonel Rossant**, 2016 :

http://www.doctissimo.fr/html/sante/encyclopedie/sa_1223_icteres_nouveau.htm

Articles:

- ♣ **Bruno Baudin**, Exploration biochimique du foie en 2017, revue francophone des laboratoires, 2017, 490 //2017, page de 25 à 33
- ♣ **Berk MA, Mimouni F, Miodovnik M, Hertzberg V, Valuck J**: Macrosomia in infants of insulin-dependent diabetic mothers. *Pediatrics* 1989, 83(6): 1029-1034
- ♣ **Claire Boithias, Christine Castel, Laurence Foix-L'Helias, Florence Vitry, Michèle Vial** Ictère en maternité et après la sortie. Volume 8, issue 5, Septembre-Décembre 2005.
- ♣ **Thérèse Cynober, Françoise Miélot, Pierre-Olivier Schischmanoff, Jean Delaunay, Gil Tchernia**, La sphérocytose héréditaire, *Revue française des laboratoires*, Elsevier Masson, 2008, 8 pages
- ♣ **D. Castaing, L.-A. Veilhan**, Anatomie du foie et des voies biliaires, 2006
- ♣ **Doumas, B., and Wu, T.W., 1991.** - The measurement of bilirubin fractions in serum. *Clin. Rev. Clin. Lab. Sci.*, 28 (5-6), 415-445.
- ♣ **Feldmann Gérard, Maurice Michèle, Xavier-Bichat**, Membrane plasmique de l'hépatocyte et pathologie hépatique, 1997
- ♣ **E Gobert De Paepe¹, G Munteanu¹, PO Schischmanoff², D Porquet¹**, (¹Laboratoire de biochimie-hormonologie, Hôpital Robert Debré, Paris)(²Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, Hôpital Avicenne, 125 rue de Stalingrad, 93009 Bobigny), octobre 2007.
- ♣ **Hanko E, Tommarello S, Watchko JF, Hansen TW**: Administration of drugs known to inhibit P-glycoprotein increases brainbilirubin and alters the regional distribution of bilirubin in rat brain. *Pediatr Res* 2003.
- ♣ **Hasan Özkan, Hale Ören, Mansur Tatli, Halil Ates, Abdullah Kumral and Nuray**: Erythroid Apoptosis in Idiopathic Neonatal Jaundice : *PEDIATRICS* Volume 121,Number 5, May 2008
- ♣ **Hascoet JM**: Control of brain intracellular bilirubin levels. *Pediatr Res* 2003 54(4) :439-440
- ♣ **Heitmann, R. N., and Bergman, E. N., 1980.**- Integration of amino acid metabolism in sheep: effects of fasting and acidosis. *Am. J. Physio*; **239**, 248-254.
- ♣ **Jahrig D, Jahrig K, Stiete S, Beyersdorff E, Poser H, Hopp H**: Neonatal jaundice in infants of diabetic mothers. *Acta Paediatr Scand Suppl* 1989, 83(6): 1029-1034.
- ♣ **Labrune P**,[Severe neonatal jaundice: Definition and management]. *Arch Pediatr* 1998, 5(10):1162-1167.
- ♣ **Lott, J., and Doumas, B., 1993.** - Direct" and Total Bilirubin Tests: Contemporary Problems. *Clin. Chem*, 39, 641-647.
- ♣ **MacDonald MG, Seshia MMK, Mullet MD**: Avery's neonatology pathophysiology and management of the newborn.6th edn. Philadelphia: Lippincott Williams and Wilkins; 2005
- ♣ **M. Maitre, J.-F. Blicklé**, métabolismes hépatiques, Elsevier Masson, 2008, 7-005-B-10, 16 pages

- ♣ **Malik R., Selden C., Hodgson H.** The role of non-parenchymal cells in liver growth. *Semin. Cell Develop Biol.* 13:425-431, 2002.
- ♣ Management of hyperbilirubinemia in the newborn infant 35 or more weeks of gestation. *American academy of Pediatrics* 2004 114(1) 297-316.
- ♣ **McDonagh AF:** Is bilirubin good for you? *Clin Perinatol* 1990, 17(2):359-369.
- ♣ **B. Mégarbane,** Déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase : quand y penser et quelles précautions prendre ?, 2008, Elsevier Masson, 399—406,
- ♣ **Muraca, M., and Blanckaert, N.,** 1983.- Liquid chromatographic assay and identification of mono-and dieter conjugates of bilirubin in normal serum. *Clin. Chem*, 29(10), 1767- 1771.
- ♣ **Myara, A., et Trivin, F.,** 1994.- Texte Anne Myara Cahier Tome 2-Bilirubine. *Bioch.ap-hop-paris.fr*.2007.
- ♣ **Salma Naderi, Fatemeh Safdarian, Davood Mazloomi,Elham Bushehri, Reza Hamidian.** Efficacy of Double and Triple Phototherapy in Term Newborns with Hyperbilirubinemia: The First Clinical Trial. *Pediatr Neonatal* 2009;50(6):266–269
- ♣ **Odièvre M,** troubles constitutionnels du métabolisme de la bilirubine .*Encycl. Med Chir* (Elsevier, paris), hépatologie ,7-014-A-20
- ♣ **Ostrow JD, Pasco10 L, Shapiro SM, Tiribelli C:** New concepts in bilirubin encephalopathy. *Eur J Clin Invest* 2003. 33(11):988-997.
- ♣ **Popper, H., et Schaffner, F., 1957.-** Liver: Structure and Function, New York: McGraw-Hill.
- ♣ **Rand, R.W., and DI Pasqua, A.,** 1962.- A new diazo method for the determination of bilirubin. *Clin. Chem.* 8, 570-575
- ♣ **A. Renaulta, D.Mitanchez, A.Cortey,** Déficit en G6PD chez la fille à révélation néonatale, *Revue de 4 cas cliniques*,2017, Elsevier Masson, 4478, 7 pages
- ♣ **Jean-Christophe Rozé, Jean Laugier, Umberto Siméoni :** Hépatologie et ictère. In: Soins aux nouveau-nés. Avant, pendant et après la naissance. Edited by Masson, 2ème edition edn. Paris; 2006. 491 -506.
- ♣ **Suresh GK, Martin CL, Sol1 RF:** Metalloporphyrins for treatment of unconjugated hyperbilirubinemia in neonates. *Cochrane Database Syst Rev* 2003(2):CD004207.
- ♣ **Taesh WH, Ballard RA, Avery ME:** Disorders of bilirubin metabolism. In: Schaffer and Avery's diseases of the newborn. Sixth edn. Philadelphia: W.B Saunders Company: 1991:749-752.
- ♣ **Trivin F,** Physiologie de la bilirubine. *Encycl Méd Chir* (Elsevier,Paris), Hépatologie: 7-014-A-10,1998,8 p).
- ♣ **Van Den Berg, A.A.H., and Muller, P.,** 1916.- Ueber eine direkte und eine indirekte. Diazo-reaktion auf Bilirubin. *Biochemische . Zeitschrift .* 77:90-1

Annexes

Plan des annexes :

- ↻ Annexe I** : La peau jaunâtre chez le nouveau-né ictérique
- ↻ Annexe II** : Le berceau de photothérapie
- ↻ Annexe III** : Le plasma des personnes ictériques
- ↻ Annexe IV** : Le trouble du tonus causé par l'ictère nucléaire
- ↻ Annexe V** : L'examen physique des nouveau-nés ictériques
- ↻ Annexe VI** : le logiciel STATISTICA 10
- ↻ Annexe VII** : Table de student T
- ↻ Annexe VIII** : la corrélation linéaire



Annexe I : La peau jaunâtre chez des nouveau-nés ictériques

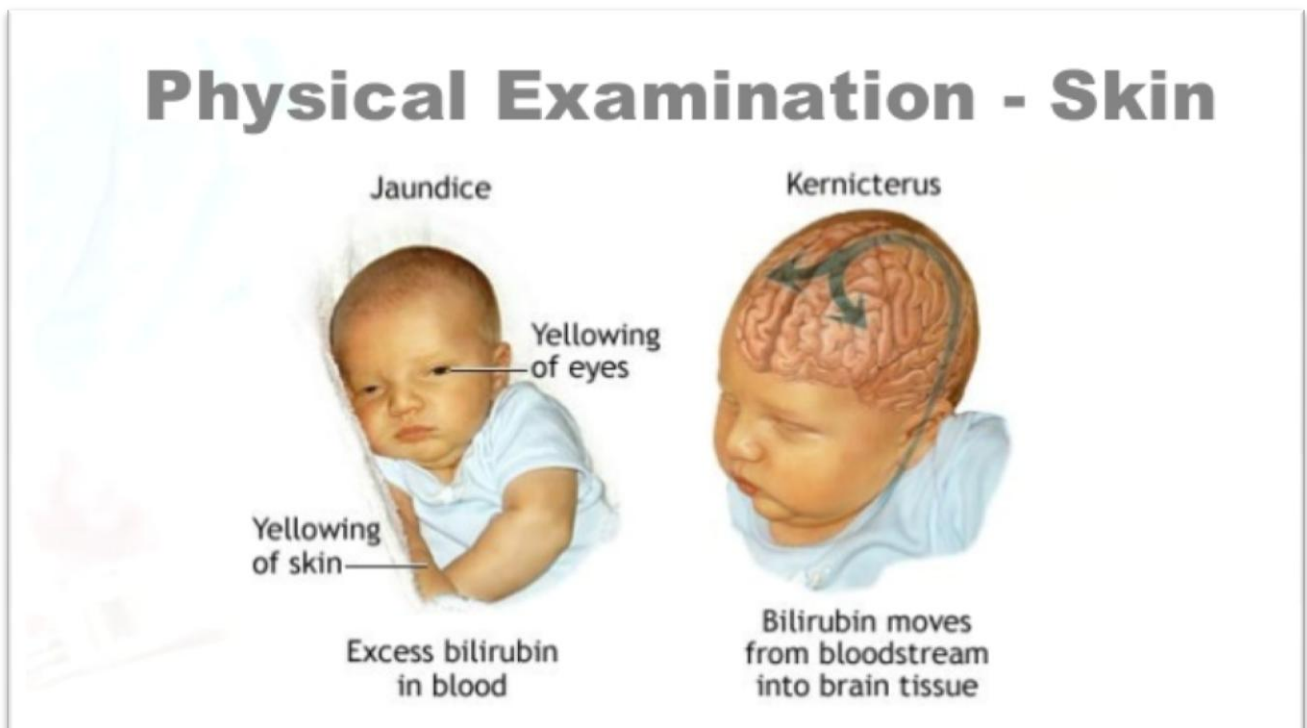


Annexe II : Le berceau de la photothérapie

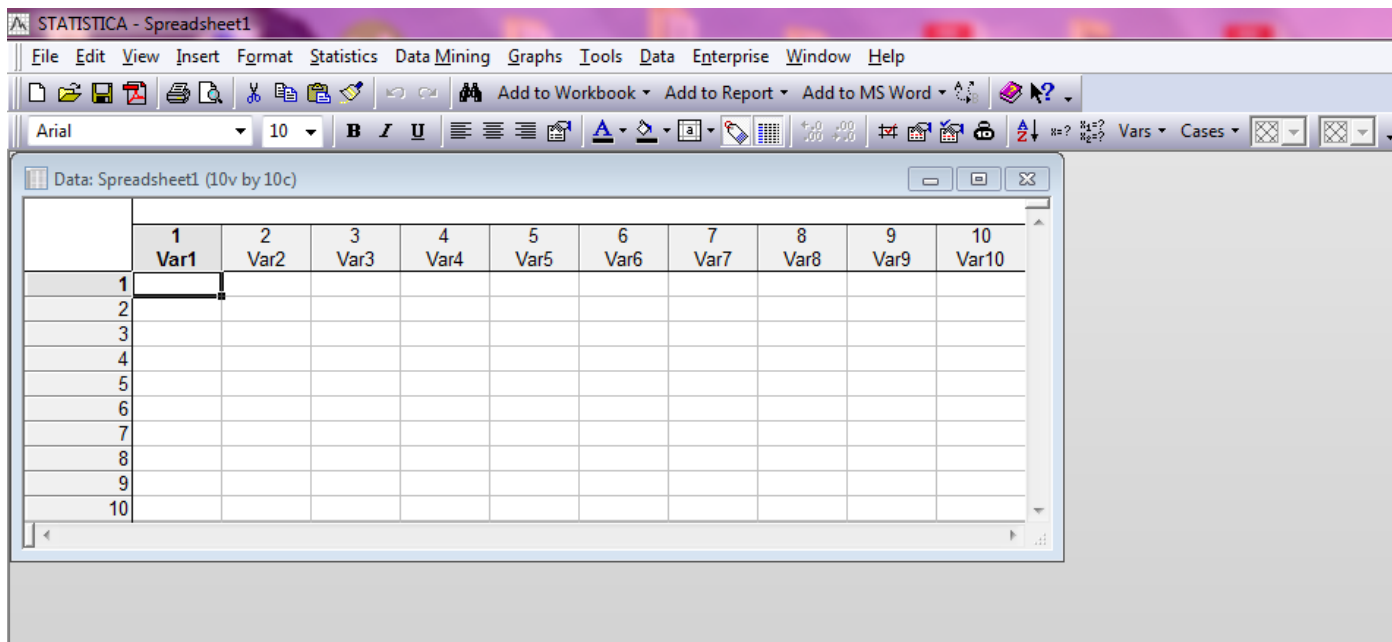


Annexe IV : Le trouble du tonus causé
Par l'ictère nucléaire

Annexe III: Le plasma des personnes ictériques



Annexe V : l'examen physique des nouveau-nés ictériques



Annexe VI : image d'un logiciel Statistica





Table de t (Student)

v	0,90	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,158	1,000	1,963	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	616,619
2	0,142	0,816	1,386	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,598
3	0,137	0,765	1,250	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,924
4	0,134	0,741	1,190	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,610
5	0,132	0,727	1,156	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,069
6	0,131	0,718	1,134	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	0,130	0,711	1,119	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408
8	0,130	0,706	1,108	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041
9	0,129	0,703	1,100	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781
10	0,129	0,700	1,093	1,372	1,812	2,238	2,764	3,169	4,587
11	0,129	0,697	1,088	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	0,128	0,695	1,083	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	0,128	0,694	1,079	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221
14	0,128	0,692	1,076	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140
15	0,128	0,691	1,074	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	0,128	0,690	1,071	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015
17	0,128	0,689	1,069	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965
18	0,127	0,688	1,067	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	0,127	0,688	1,066	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	0,127	0,687	1,064	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850
21	0,127	0,686	1,063	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819
22	0,127	0,686	1,061	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	0,127	0,685	1,060	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,767
24	0,127	0,685	1,059	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	0,127	0,684	1,058	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725
26	0,127	0,684	1,058	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707
27	0,127	0,684	1,057	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690
28	0,127	0,683	1,056	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	0,127	0,683	1,055	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	0,127	0,683	1,055	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646
∞	0,126	0,674	1,036	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,291

C. Tables de F

Deux estimations s_A^2 et s_B^2 d'une même variance comportent respectivement v_A et v_B degrés de liberté. On désigne par F la variable aléatoire :

$$F = \frac{s_A^2}{s_B^2}$$

Il existe une table de F par risques α . Il est important de noter que ces tables numérisées ont été établies pour un test unilatéral

1. Table pour le risque unilatéral $\alpha = 0,025$

v_B	v_A	1	...	9	10	...	60	120	∞
1	1								
...	...								
9	9			4,03	3,96				
10	10			3,78					
...	...								
60	60								
120	120								
∞	∞								1,00

Elle donne la limite supérieure $F_{v_B}^{\alpha}$ de la variable F, pour le risque 0,025 (valeur ayant 2,5 chances sur 100 d'être égale ou dépassée), en fonction des nombres de degrés de liberté v_A (numérateur) et v_B (dénominateur).

Par exemple, pour $v_A = 9$, $v_B = 10$, la valeur seuil est $F_{10}^9 = 3,78$; on remarquera que cette valeur est différente de celle $F_{10}^9 = 3,96$, qui correspond à $v_A = 10$ et $v_B = 9$. Cette table est celle qu'il faut utiliser lorsque le test F est bilatéral avec un risque α choisi égal à 0,05.

2. Table pour le risque unilatéral $\alpha = 0,05$

La table est structurée de la même façon que la table 0,025; seules changent les valeurs numériques de la limite supérieure $F_{v_B}^{\alpha}$ qui sont évidemment plus faibles; à titre d'exemple $F_{10}^9 = 3,02$ et $F_{10}^9 = 3,14$.

Cette table est à utiliser quand on effectue un test F unilatéral avec un risque $\alpha = 0,05$ ou un test bilatéral avec un choix de risque α égal à 0,10.

La corrélation linéaire :

Une série statistique se présente sous la forme de n couples de mesure $(x_i ; y_i)$. Les variables x et y sont les deux aléatoires.

il s'agit d'une situation expérimentale fréquente, par exemple lorsqu'il est mesuré, sur chaque un d'un ensemble de sujets, deux paramètres biologiques (les valeurs des deux paramètres, variable d'un sujet à l'autre, sont aléatoires, aucune n'est contrôlée). mentionne encore le cas de la comparaison de deux méthodes analytiques, chaque échantillon étant dosé par les deux méthodes (chaque méthode présentant une imprécision inévitable, les variables X et Y représentant les mesures par les deux méthodes sont donc aléatoires). (Jean Agneray, sciences mathématiques, physiques et chimiques).

Le but est d'étudier une éventuelle liaison entre ces deux variables, plus précisément de trouver un indice qui permette d'évaluer l'intensité de cette liaison, les deux variables étant considérées symétriquement.

Une représentation graphique du nuage de points sur deux axes rectangulaire est importante à considérer en premier : les points doivent se grouper sous forme d'un seul nuage plus au moins allongé

- ♣ En présence d'un point (ou quelques points) isolé(s) très éloigné(s) du nuage des autres points, il convient d'être très prudent dans l'interprétation de la corrélation.
- ♣ lorsque le nuage présente une courbure prononcée, la corrélation n'est pas linéaire et les développements qui suivent ne s'appliquent pas à un tel cas.

|

Annexe VIII : la corrélation linéaire

Glossaire :

➡ La moyenne :

$$m = \frac{\sum X}{n}$$

➡ La variance :

$$s^2 = \frac{\sum X^2 - \frac{(\sum X)^2}{n}}{n-1}$$

➡ L'écart-type:

$$S = \sqrt{s^2}$$

➡ Le coefficient de variation :

$$CV = \frac{S}{m} \times 100$$

➡ La loi de Beer-Lambert :

$$A = -\log T = \epsilon l C$$

Avec :

- A : absorbance ou densité optique
- T : transmission optique
- ϵ : coefficient d'absorbance (L/ mol \times cm)
- l : longueur du trajet optique (cm)
- C : concentration molaire de la solution (mol/L)

➡ Répétabilité des résultats de mesure :

Étroitesse de l'accord entre les résultats de mesurages successifs du même mesurande, mesurages effectués avec l'application de la totalité des mêmes conditions de mesure.

NOTE :

- ↯ Ces conditions sont appelées conditions de répétabilité
- ↯ Les conditions de répétabilité comprennent : même mode opératoire, même observateur, même instrument de mesure utilisé dans les mêmes conditions, même lieu, répétition durant une courte période de temps.
- ↯ La répétabilité peut s'exprimer quantitativement à l'aide des caractéristiques de dispersion des résultats.

➤ reproductibilité des résultats de mesurage :

Étroitesse de l'accord entre les résultats des mesurages du même mesurande, mesurages effectués en faisant varier les conditions de mesure.

NOTE :

- ♣ Pour qu'une expression de la reproductibilité soit valable, il est nécessaire de spécifier les conditions que l'on fait varier.
- ♣ Les conditions que l'on fait varier peuvent comprendre : principe de mesure, méthode de mesure, observateur, instrument de mesure, étalon de référence, lieu, conditions d'utilisation, temps.
- ♣ La reproductibilité peut s'exprimer quantitativement à l'aide des caractéristiques de dispersion des résultats.
- ♣ Les résultats considérés ici sont habituellement les résultats corrigés.

Résumé :

Le nouveau-né a un surplus de globules rouges par rapport à l'enfant plus grand ou à l'adulte. La destruction de ces globules rouges en grand nombre produit une quantité de bilirubine qui peut dépasser les capacités de fonctionnement du foie immature. Il s'ensuit un excès de bilirubine libre qui se traduit par un ictère simple physiologique, qui est le type d'ictère néonatal le plus fréquent, ou par un ictère nucléaire en raison de sa liposolubilité.

De ce fait, le dosage de la bilirubine doit refléter le taux exact présent dans le sang pour décider de la prise en charge adéquate des nouveau-nés ictériques.

Différentes méthodes permettent de mesurer la bilirubinémie .Notre travail avait pour but de comparer deux réactifs de dosage de la bilirubine utilisant des accélérateurs différents.

On a réalisé cette étude au niveau du laboratoire de l'unité Hassiba Benbouali CHU Frantz fanon Blida, sur 114 sérums des nouveau-nés. On a aboutit qu'il existe une différence significative entre ces deux méthodes, ainsi qu'une faible corrélation, mais les résultats de la méthode Jendrassik-groft sont en adéquation avec le contrôle de qualité interne.

Les mots clé : Bilirubine, Ictère, Jendrassik-Groft, DMSO, CHU Blida.

-Chekhoum kaouthar
-Zegadi-chekhoum@outlook.com

-Zegadi Soumia
-Zegadi-chekhoum@outlook.com

Résumé :

Le nouveau-né a un surplus de globules rouges par rapport à l'enfant plus grand ou à l'adulte. La destruction de ces globules rouges en grand nombre produit une quantité de bilirubine qui peut dépasser les capacités de fonctionnement du foie immature. Il s'ensuit un excès de bilirubine libre qui se traduit par un ictère simple physiologique qui est le type d'ictère néonatal le plus fréquent, ou par un ictère nucléaire en raison de sa liposolubilité.

De ce fait, le dosage de la bilirubine doit refléter le taux exact présent dans le sang pour décider de la prise en charge adéquate des nouveau-nés ictériques.

Différentes méthodes permettent de mesurer la bilirubinémie. Notre travail avait pour but de comparer deux réactifs de dosage de la bilirubine utilisant des accélérateurs différents. (Caféine et DMSO)

Nous avons réalisé cette étude au niveau de laboratoire de l'unité Hassiba Benbouali CHU Frantz fanon Blida, sur 114 sérums des nouveau-nés. Nous avons abouti qu'il existe une différence significative entre ces deux méthodes, ainsi qu'une faible corrélation, mais les résultats de la méthode Jendrassik-Groft sont en adéquation avec le contrôle de qualité interne.

Mots clés : Bilirubine, Ictère, Jendrassik-Groft, DMSO, CHU Blida

Summary:

The newborn has a surplus of red blood cells compared to older children or adults. . The destruction of these red blood cells in large numbers produce an amount of bilirubin which may exceed the capacities of the immature liver functioning. It follows an excess of free bilirubin which translates a simple physiological jaundice, which is the most common type of neonatal jaundice, or by nuclear jaundice because of its liposolubility.

Because of this, the dosage of bilirubin must reflect the exact rate present in blood to decide on the adequate support of excessive newborns. Different methods permit the measuring of bilirubinemia.

Our work was intended to compare two reagents for the determination of bilirubin using different accelerators (caffeine and DMSO). This study was carried out at the laboratory of the Hassiba Benbouali CHU Frantz Blida, on 114 newborn serums. We have results that there is a significant difference between these two methods, as well as a weak correlation. But the Jendrassik-groft method results in line with internal quality control.

Keys words: Bilirubin, Icterus, DMSO, Jendrassik-Groft, CHU Blida

ملخص:

يمتلك الرضيع عددا أكبر من الكريات الحمراء مقارنة بالأطفال أو البالغين. ويعتبر التخلص من هذا الفائض من الكريات الحمراء عاملا أساسيا لإنتاج كمية معتبرة من البليروبين و التي تستطيع تجاوز قدرات الكبد في تأدية وظيفته بسبب عدم نضجه بعد مما يؤدي إلى زيادة نسبة البليروبين غير المقترن في الدم و إصابة الرضيع باليرقان الفيزيولوجي و الذي يعد النوع الأكثر بساطة و الأكثر شيوعا بين الرضع و لكن يمكن له أن يتطور فيصيب الدماغ بالتلف.

لهذا يجب أن يقاس البليروبين بدقة حتى نحصل على قيمته بالضبط والتي تمكننا من اتخاذ القرار فيما يخص العلاج المناسب للرضيع توجد العديد من الطرق لقياس البليروبين. الهدف من مذكرتنا ان نقارن طريقتين تستخدمان مسرعين مختلفين.

أجريت دراستنا على مستوى مخبر وحدة حسبية بن بو علي للمستشفى الجامعي فرانتز فانون بالبلدية. باستعمال مصل 114 رضيع. توصلنا إلى وجود اختلاف معتبر بين الطريقتين كما انه يوجد ترابط ضعيف بينهما وتطابق النتائج المتحصل عليها بطريقة جندراسيك جروفت مع مصل مراقبة الجودة.