



Institut des Sciences  
Vétérinaires- Blida

Université Saad  
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du  
**Diplôme de Docteur Vétérinaire**

**Enquête sur l'usage de la biochimie clinique  
En milieu rural**

**BOULARIAH YAGOUB**

Présenté par

**BOUNIF MOHAMED AYMEN**

Devant le jury :

**Président : YAHIMI A.**

**MCB**

**ISV Blida**

**Examineur : MEDROUH B.**

**MAB**

**ISV Blida**

**Promoteur : MATREF A.**

**MAA**

**ISV Blida**

**Année : 2017 – 2018**

## **Remerciements**

Je remercie tout d'abord mon dieu qui m'a donné la force pour terminer ce modeste travail.

Je tiens à remercier mon promoteur le docteur :

**Mr. MATREF Ahmed**

Pour la confiance qu'il m'a témoigné en me proposant ce sujet, ses encouragements et sa Patience, Les discussions scientifique qu'il a su générer, ses remarques et ses suggestions qui m'ont permis de finaliser ce modeste travail je souhaite lui transmette ma reconnaissance et ma plus profonde gratitude

Je désirai aussi remercier le MR. YAHIMI Abdelkrim

Pour avoir accepté de juger ce travail et de présider le jury.

Je tiendrai également à remercier MR. MEDROUH Bachir

Pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à ce travail. En acceptant de l'examiner.

En fin, j'adresse mes sincères remerciements a tout enseignants de l'institut vétérinaire

Merci à tous ceux qui on contribue, de près ou de lion, a l'aboutissement de ce travail.

**Merci**

## Remerciement

Avant tout le grand merci à ALLAH qui nous a donné la santé, le courage, la patience et la réussite dans ce travail.

Tout le remerciement s'adresse à :

Dr. MATREF. A. pour avoir accepté de m'encadrer et me diriger, pour ses conseils, ses remarques et tous ses efforts qui ont permis de réaliser ce travail.

A tous les membres de la famille BOULARIAH et la famille BOULAIK; pour leur support et encouragement.

A tous les amis, les collègues et les enseignants pour les conseils, le soutien et tout l'aide dont ils nous ont donné.

Grand merci.

## **Dédicace**

Je dédie ce modeste travail à mes parents qui ont sacrifié tout le long de ces années pour faire de moi ce que je suis maintenant. Un rêve ne se réalise jamais seul, et c'est à vous que je dois tout cela.

A mes amis proches qui ont été ma famille dans ces années d'étude loin de la maison ; sans oublier tous les amis du monde vétérinaire.

A toute ma famille qui m'a soutenu dans tous les défis de ma vie spécialement dans les examens du bac et la vie universitaire.

Aux enseignants qui m'ont encouragé le long mes études et facilité les tâches chaque année avec beaucoup d'enthousiasme.

Boulariah

## **Dédicace**

Tout d'abord, remerciez dieux tout puissant qui m'a donné une bonne raison et  
Confiance en lui.

A ceux qui m'éclairent le chemin de la science et de la connaissance, et qui me  
Concernent depuis l'enfance, ma Mère et mon père.

A mes chers grands parent Bouzidi et daouia

A mes cher frères Elmahdi et abdelnour

A mes cher sœurs may et djoumana

Toute ma famille

A mes amis de la cite universitaire, je vous souhaite tout le succès possible dans  
votre carrière et dans l'avenir.

A toute ce que j'aime.

M.A.BOUNIF

**Remerciements**

**Dédicace**

**Sommaire**

**Liste des illustrations**

**-Liste des abréviations**

**-Liste des photos**

**-Liste des tableaux**

**Résumé**

**A- Partie bibliographique :**

**Introduction.....01**

**Chapitre I : Histoire**

**I.1. Quelques étapes dans l’histoire de la discipline.....02**

**I.2. Les découvertes en biochimie structurale .....02**

**I.2.1. Les éléments chimiques de base .....02**

**I.2.2. Les protéines .....02**

**I.2.3. Les acides nucléiques .....03**

**I.3. Les découvertes en biochimie métabolique .....04**

**I.3.1. La découverte des catalyseurs biologiques .....04**

**I.3.2. Exploration des voies métaboliques .....05**

**I.3.2.1. La glycolyse .....06**

**I.3.2.2. La respiration cellulaire .....06**

I.3.3. Biochimie des régulations .....	07
--	----

## **Chapitre II : Quelques prélèvements utiles en biochimie clinique chez les Animaux**

II.1. Contention chez les animaux.....	10
--	----

II.2. Le prélèvement de sang.....	10
-----------------------------------	----

II.2.1. Indications.....	10
--------------------------	----

II.2.2. Technique.....	11
------------------------	----

II.2.3. Bonnes pratiques.....	11
-------------------------------	----

II.3. Le prélèvement d'urine.....	13
-----------------------------------	----

II.3.1. Indications.....	13
--------------------------	----

II.3.2. Techniques.....	13
-------------------------	----

II.3.2. Bonnes pratiques.....	13
-------------------------------	----

II.4. Analyses pratiquées .....	14
---------------------------------	----

II.5. Analyse physique.....	14
-----------------------------	----

II.5.1. Couleur .....	14
-----------------------	----

II.5.2. Turbidité.....	14
------------------------	----

II.5.3. Concentration en soluté (densité) .....	14
---	----

II.6. Analyse chimique .....	15
------------------------------	----

II.6.1. La bandelette urinaire .....	15
--------------------------------------	----

II.6.1.1. Principe et mode d'utilisation .....	15
--	----

## **Chapitre III : Laboratoire**

### **III.1. LES REGLES DE FONCTIONNEMENT**

<b>III.1.1. Obligations de la direction et des responsables des laboratoires dans l'organisation et l'exécution des analyses. ....</b>	<b>26</b>
<b>III.1.2. Personnel.....</b>	<b>28</b>
<b>III.1.2.1. Obligations.....</b>	<b>28</b>
<b>III.1.2.2. Organigramme du personnel .....</b>	<b>29</b>
<b>III.1.2.3. Conservation des enregistrements du personnel.....</b>	<b>29</b>
<b>III.1.2.4. Responsabilités du directeur dans la gestion des ressources humaines.....</b>	<b>29</b>
<b>III.1.2.5. Qualification et habilitation .....</b>	<b>29</b>
<b>III.1.2.6. Formation continue.....</b>	<b>30</b>
<b>III.1.3. Locaux et conditions environnementales.....</b>	<b>30</b>
<b>III.1.3.1. Aménagement.....</b>	<b>30</b>
<b>III.1.3.2. Entretien.....</b>	<b>31</b>
<b>III.1.4. Sécurité et élimination des déchets .....</b>	<b>31</b>
<b>III.1.4.1. Sécurité .....</b>	<b>31</b>
<b>III.1.4.2. Elimination des déchets .....</b>	<b>32</b>
<b>III.1.5. Matériel de laboratoire .....</b>	<b>34</b>
<b>III.1.6. Achat et approvisionnement des produits consommables .....</b>	<b>35</b>



<b>III.2. LES EXIGENCES TECHNIQUES .....</b>	<b>35</b>
<b>III.2.1 - Phase pré-analytique :.....</b>	<b>35</b>
<b>III.2.2 - Phase analytique :.....</b>	<b>35</b>
<b>III.2.3 - Phase post-analytique :.....</b>	<b>36</b>
<b>III.2.4.1- Validation des résultats.....</b>	<b>36</b>
<b>III.2.4.2 - Expression des résultats et comptes rendus d'analyses : .....</b>	<b>36</b>
<b>III.2.4.3 - Conservation des échantillons.....</b>	<b>36</b>
<b>III.3. LE SYSTEME DE MANAGEMENT DE LA QUALITE .....</b>	<b>36</b>
<b>III.3.1. Organisation du système de management de la qualité.....</b>	<b>36</b>
<b>III.4. STOCKAGE ET ARCHIVAGE .....</b>	<b>37</b>
 <b>B- Partie expérimentale</b>	
<b>I.Matériel et Méthodologie d'élaboration d'un questionnaire .....</b>	<b>38</b>
<b>I.1 Les étapes pour élaborer un questionnaire .....</b>	<b>38</b>
<b>II.Les logiciels informatiques.....</b>	<b>40</b>
<b>II.1 Créa_Questionnaire:.....</b>	<b>40</b>
<b>II. Le Sphinx -V5:( logiciel qu'on a choisie pour notre etude).....</b>	<b>41</b>
<b>III.Modèle de questionnaire réaliser par logiciel informatique SPHINX.....</b>	<b>42</b>
<b>IV. Résultats Questionnaire sur les analyses biochimiques rurale.....</b>	<b>43</b>
<b>V.Interprétation des résultats .....</b>	<b>47</b>

**VI. Conclusion .....49**

**VII. Références bibliographiques .....50**

**Liste des abréviations :**

**PAL** : Phosphate alcaline

**LDH** : Lactate déshydrogénase

**CPH** : Créatinine phosphokinase

**GGT** : Gama glutamyl transférase

**ALAT** : Alanine AminoTransférase

**ASAT** : Aspartate AminoTransférase

**ATP** : Adénosine triphosphate

**CK** : Créatinine Kinase

**CPK** : Créatinine Phospho Kinase

**DEA** : Diethanolamine

**EDTA** : Acide Ethylène Diammine Tétracétique

**g/L**: Gramme par litre

**mmol/L**: millimole par litre

**NAD**: Nicotinamide Adénine Dinucléotide (forme oxydée)

**NADH** : Nicotinamide Adénine Dinucléotide Réduite

**NADPH**: Nicotinamide Adénine Dinucléotide Phosphate Réduite

**PU/PD** : Polyurie/Polydypsie

**TGO** : Transaminase glutamooxaloacétique

**TGP** : Transaminase glutamopyruvique

**UI** : Unité internationale

**liste des tableaux :**

<b>Tableau I: Les intérêts des ions constituants inorganiques du plasma.....</b>	<b>23</b>
<b>Tableau II: Les intérêts des enzymes et des constitutions organiques du plasma.....</b>	<b>24</b>
<b>Tableau III : l'avis concernant l'apport de la biochimie pour le diagnostic.....</b>	<b>43</b>
<b>Tableau IV: les analyses biochimique en pratique courante.....</b>	<b>43</b>
<b>Tableau v: les difficultés qui empêchent l'usage de la biochimie.....</b>	<b>44</b>
<b>Tableau VI: les cas de l'usage de la biochimie.....</b>	<b>44</b>
<b>Tableau VII: les paramètres biochimiques utilisés.....</b>	<b>44</b>
<b>Tableau VIII: L'étude complémentaire par rapport la formation.....</b>	<b>45</b>
<b>Tableau IX: L'usage des tests rapides.....</b>	<b>45</b>
<b>Tableau X: La demande au laboratoire à prédestination humaine ou vétérinaire.....</b>	<b>46</b>

**Liste des figures :**

<b>Figure I : prélèvement du sang au niveau du veine caudale.....</b>	<b>12</b>
<b>Figure II : Les différents tubes de prélèvements.....</b>	<b>13</b>

## RESUME

Ce travail qui vise à enquêter et à questionner au niveau des cliniques vétérinaires sur la réalisation des analyses biochimiques et la présence ou pas des moyens et du matériels d'analyses biochimique et quelles sont les difficultés qui entravent les médecins vétérinaires dans ce domaine. En utilisant un programme spécial aux questionnaire (Sphinx Plus<sup>2</sup> Version 5).

Toutefois, bon nombre de praticiens sont confrontés à d'énormes difficultés à réaliser convenablement les analyses de laboratoire dû à un manque de personnel qualifié en général. Compte tenu du grand rôle que joue les animaux, il s'avère nécessaire de mettre un accent sur les renseignements fournis par les analyses de laboratoire afin d'aboutir à un bon diagnostic.

### Abstract:

this work aims to investigate and question at the level of veterinary clinics on the achievements of biochemical analyzes and the presence or not of the means and materials of biochemical analyzes and what are the difficulties which hinder the veterinarians in this field. By using a special questionnaire program (Sphinx Plus<sup>2</sup> Version 5).

However, many practitioners face enormous difficulties in adequately performing laboratory tests due to a lack of qualified personnel in general. Given the important role played by animals, it is necessary to focus on the information provided by laboratory analyzes in order to arrive at a good diagnosis.

### ملخص:

يهدف هذا العمل الى التحقيق و السؤال على انجاز التحاليل الطبية على مستوى العيادات البيطرية. وهل يوجد في العيادات البيطرية الوسائل والمعدات اللازمة لذلك, وماهي الصعوبات التي يواجهها الأطباء البيطرين في هذا المجال. وذلك باستعمال برنامج خاص للأسئلة.

ومع ذلك ، يواجه العديد من الممارسين صعوبات هائلة في إجراء الفحوص المخبرية بشكل كافٍ بسبب نقص الموظفين المؤهلين بشكل عام.

ونظراً للدور الهام الذي تلعبه الحيوانات ، من الضروري التركيز على المعلومات التي توفرها التحاليل المختبرية من أجل التوصل إلى تشخيص جيد.

**PARTIE**  
**BIBLIOGRAPHIQUE :**

**CHAPITRE I :**  
**HISTOIRE DE LA BIOCHIMIE**

## **Introduction :**

La biochimie clinique est l'une des quatre disciplines de la biologie médicale, celle-ci comporte : biochimie clinique, hématologie, microbiologie, pathologie ; elle traite de la biochimie appliquée à un processus physiopathologique en vue de déterminer un diagnostic et de suivre l'évolution d'une maladie de même que l'efficacité d'un traitement. (**Gaudillier, 2004**). Appelée médecine de la recherche, elle diffère aussi bien de la clinique pure que des sciences dites fondamentales ; elle se distingue de la clinique pure par les méthodes utilisées (l'examen d'une lame de sang, une courbe d'électrophorèse). (**Gaudillier, 2004**).

Le travail du biologiste médical spécialisé en biochimie clinique consiste en l'interprétation des résultats en fonction du reste du bilan biologique et avec l'aide du clinicien. Cette interprétation prend en compte les caractéristiques physiologiques du patient (âge, sexe, poids...) et les symptômes repérés par le clinicien dans le but d'aboutir avec lui (à l'aide, si besoin, de tests supplémentaires) au diagnostic de la pathologie. Ainsi, la biochimie clinique (chimie pathologique) est le domaine de la biologie médicale qui concerne l'analyse des molécules contenues dans les liquides corporels (Sang, urines,...) et l'interprétation des résultats de ces analyses par un biologiste médical dans le but de caractériser l'origine physiopathologique d'une maladie. Ces analyses présentent un intérêt diagnostique évident chez les animaux de rente parce qu'elles permettent d'identifier diverses pathologies et d'apprécier la gravité des lésions.

Toutefois, bon nombre de praticiens sont confrontés à d'énormes difficultés à réaliser convenablement les analyses de laboratoire dû en général à la rareté des laboratoires vétérinaires.

Compte tenu du grand rôle que jouent les animaux de compagnie et les animaux de rente en santé publique (zoonoses), dans notre économie (production) et de leur valeur affective, il s'avère nécessaire de mettre un accent sur les renseignements fournis par les analyses de laboratoires afin affirmer et d'infirmer le diagnostic. C'est dans ce cadre que cette étude a été menée, avec pour objectif général de gérer et d'interpréter les analyses effectuées au laboratoire de biochimie clinique.

Le document se présentera en deux grandes parties : une première partie bibliographique qui traitera de la stratégie d'analyse en biochimie clinique et les profils biochimiques de quelques paramètres sanguins ; ensuite, une deuxième partie qui traitera du matériel et de la méthodologie qui nous permettra d'aboutir aux résultats qui seront ensuite discutés.



## **Chapitre I : Histoire de la biochimie**

### **I.1. Quelques étapes dans l'histoire de la discipline**

On considère Antoine-Laurent Lavoisier (1743-1794), fondateur de la chimie moderne et initiateur de l'analyse élémentaire, comme le précurseur de la biochimie métabolique. Il est le premier à poser le phénomène de la respiration sur un terrain chimique, en faisant le lien entre respiration et combustion, sur la base de la consommation de dioxygène lors de ces deux processus. Avec le physicien Pierre-Simon de Laplace (1749-1827), il introduit les bases de l'énergétique animale, en montrant que la respiration entraîne un dégagement calorique. **(de Pierre Vignais, EDP Sciences, 2001)**

### **I.2. Les découvertes en biochimie structurale :**

#### **I.2.1. Les éléments chimiques de base :**

Tandis que la caractérisation chimique des sucres et des acides aminés se développe, Louis Pasteur (1822-1895), étudiant la déviation de la lumière polarisée par les cristaux de tartrate, introduit en 1848 la notion d'asymétrie moléculaire.

Jacobus Vant'hoff (1852-1911) et Joseph Le Bel (1847-1930) publie la théorie du carbone tétravalent comme base explicative de cette asymétrie, et Emil Fisher (1852-1919) isole différents stéréoisomères du glucose. **(Philippe de La Cotardière, 2004)**

#### **I.2.2. Les protéines :**

Le terme « protéine » est introduit en 1838 pour désigner une fraction essentielle des « substances albumineuses », substances azotées formant par chauffage un précipité blanc. Dès 1820, les acides aminés sont reconnus comme constituants des protéines : leur isolement et leur caractérisation structurale prendra plus d'un siècle. Emil Fisher y apporte une contribution majeure, et propose, simultanément avec Franz Hofmeister (1850-1922), leur mode covalent de liaison au sein des protéines la liaison peptidique. La diversité moléculaire des protéines s'impose progressivement, et une classification se met en place, tandis que les techniques chromatographiques se développent. En 1953, Frederick Sanger (1918-) publie la première séquence en acides aminés d'une protéine, celle de l'insuline. En 1956, Vernon Ingram (1924-2006) démontre que le remplacement d'un acide aminé par un autre au sein de la séquence de l'hémoglobine humaine (substitution ponctuelle) est suffisant pour conduire à une protéine anormale (hémoglobine S), responsable de la drépanocytose. En 1957, choisissant la

ribonucléase comme protéine modèle, Christian Anfinsen (1916-1995) et son équipe montrent que la séquence en acides aminés d'une protéine conditionne le repliement de la chaîne polypeptidique et l'activité de la protéine.

Exploitant les techniques de diffraction des rayons X récemment apparues, Linus Pauling (1901-1994) et Robert Corey (1897-1971) déterminent les propriétés structurales de la liaison peptidique, et, en 1951, décrivent l'arrangement structural des chaînes polypeptidiques en hélice  $\alpha$  et feuillets  $\beta$  plissés. La résolution de la structure tridimensionnelle de différentes protéines par radiocristallographie, dans les années 1960, avec notamment les travaux de John Kendrew (1917-1997) et de Max-Ferdinand Perutz (1914-2002) ouvre la voie à la compréhension des bases moléculaires de leur activité biologique. La découverte des propriétés allostériques de certaines protéines, et la proposition de modèles explicatifs par Jacques Monod (1910-1976), Jeffries Wyman (1901-1995) et Jean-Pierre Changeux (1936-), d'une part, Daniel Koshland (1920-2007) d'autre part, débouche sur l'élucidation des mécanismes de régulation de cette activité. **(Lubert Stryer 2003, 5<sup>e</sup> éd)**

### **I.2.3. Les acides nucléiques**

Cherchant à déterminer la composition chimique des cellules du pus dans les zones d'infection bactérienne, Johann Friedrich Miescher (1844-1895) montre dans les années 1860 qu'une substance contenue dans le noyau de ces cellules, possédant une teneur élevée en phosphore, diffère des autres substances connues, et la nomme nucléine. Albrecht Kossel (1853-1927) confirme ces travaux, et participe, avec d'autres, au développement de la chimie des acides nucléiques, avec l'isolement et l'identification des bases, du ribose et du désoxyribose. En 1884, Kossel avait découvert les histones : en 1947, Alfred Mirsky (1900-1974) montre que les chromosomes sont constitués d'histones et d'acide désoxyribonucléique (ADN).

La purification de l'ADN de sperme de saumon par Rudolf Signer (1903-1990) permet l'obtention d'images de diffraction des rayons X compatibles avec une structure hélicoïdale. Rosalind Franklin (1920-1958) montre l'effet de l'hydratation sur les images de diffraction, suggérant l'existence de deux formes, A et B, pour l'ADN. En 1952, elle obtient des images de diffraction de la forme B qui la conduisent à postuler, en février 1953, l'existence de deux brins enroulés l'un autour de l'autre. Francis Crick (1916-2004) et James Watson (1928-) publient en avril de la même année le modèle de la double hélice et formule l'hypothèse d'un mécanisme de réplication semi-conservatrice, validée en 1958 par les expériences de Matthew Meselson

(1930-) et Franklin Stahl (1929-). Grâce à la mise au point de méthodes de séquençage, Frederick Sanger publie, en 1977, la première séquence d'un ADN génomique, celui du phage  $\phi$ X174. Avec la découverte, dans les années 1960, des acides ribonucléiques (ARN) de transfert et des ARN messagers, puis des ribozymes, s'ouvre le champ des ARN fonctionnels, en pleine expansion à l'heure actuelle après la découverte de l'ARN interférence et des microARN.

### **I.3. Les découvertes en biochimie métabolique**

#### **I.3.1. La découverte des catalyseurs biologiques**

Nutrition et digestion sont des sujets d'étude importants au début du XIX<sup>e</sup> siècle.

Le physiologiste Claude Bernard (1813-1878) découvre le rôle de la sécrétion pancréatique dans la digestion des graisses, le rôle du foie dans la sécrétion du Glucose dans le sang, et isole le glycogène hépatique, révélant la fonction glycogénique du foie. Claude Bernard extrait du foie un « ferment diastasiqne » qui libère le glucose à partir du glycogène, à l'instar de l'action sur l'amidon de la diastase extraite de l'orge germé par Anselme Payen (1795-1871) et Jean-François Persoz (1805-1868). La comparaison de la glycogénèse animale et de la fabrication d'amidon par les végétaux, argumente en faveur d'une analogie au plan métabolique entre végétaux et animaux. Claude Bernard introduit la notion de constance des conditions de vie dans le milieu intérieur des organismes vivants, essentielle à l'affranchissement par rapport aux variations du milieu extérieur, concept repris par Walter Cannon (1871-1945) sous le terme d'homéostasie.

En 1810, Gay-Lussac avait montré que la fermentation du sucre de raisin par la levure aboutissait à la formation d'éthanol et de CO<sub>2</sub>. Le rôle direct de la levure vivante ayant été établi un peu plus tard, cet organisme unicellulaire devient un modèle d'étude grâce auquel se construit la théorie de la catalyse enzymatique.

En 1835, Jöns Berzelius (1779-1848) introduit le concept de catalyse chimique. En 1878, Wilhelm Kühne (1837-1900) propose d'appeler « enzyme » le principe catalytique contenu dans la levure. En 1897, Eduard Buchner (1860-1917) montre qu'un extrait limpide de levure, ne contenant plus de cellules vivantes ni de débris membranaires, permet la transformation du glucose en éthanol. Cette expérience montre qu'une substance soluble, extractible (la zymase, que Buchner suppose de nature protéique), et non la cellule elle-même, porte le pouvoir de fermentation :

Elle signe la fin des théories vitalistes. Dans les années 1890, Emil Fisher montre que la transformation d'oses ou de glycosides par des préparations enzymatiques dépend de leur configuration spatiale, élément fondateur de la notion de stéréospécificité dans la catalyse enzymatique. Les lois fondamentales de la cinétique enzymatique sont formulées au tout début du XX<sup>e</sup> siècle par Victor Henri, puis par Leonor Michaelis et Maud Menten, qui introduisent en 1913 la notion de complexe enzyme-substrat. Quarante-cinq années plus tard, Daniel Koshland (1920-2007) introduit la théorie de l'adaptation induite (« induced fit »), sur la base de données suggérant une flexibilité dans la structure enzymatique. La démonstration de la nature protéique des enzymes est apportée pour la première fois par James Sumner (1887-1955), qui cristallise, en 1926, l'uréase et montre qu'un antisérum de lapin dirigé contre une solution d'uréase précipite l'activité uréase. Le concept est généralisé grâce à la cristallisation et à la purification d'enzymes pancréatiques, dont la ribonucléase A. La synthèse chimique complète de cette enzyme à partir d'acides aminés, réalisée par Robert Bruce Merrifield (1921-2006) en 1969, permet d'établir définitivement qu'aucune autre espèce moléculaire n'explique l'activité catalytique. En 1965, l'équipe de David Phillips (1924-1999) publie la première structure tridimensionnelle d'une enzyme, le lysozyme de blanc d'œuf, et la description moléculaire du site actif. En 1980, Sidney Altman (1939-) et Thomas Cech (1947-), étudiant l'épissage de l'ARN ribosomal de Tetrahymena, montrent pour la première fois qu'un ARN peut avoir une activité catalytique (ribozyme), démontrant ainsi que les catalyseurs biologiques ne sont pas tous des protéines. **Peter N. Campbell et Anthony D. Smith « Sciences fondamentales », 2002, 4<sup>e</sup> éd**

### **I.3.2. Exploration des voies métaboliques**

A partir de la fin du XIX<sup>e</sup> siècle, l'exploration de la chimie cellulaire s'enrichit progressivement de nouvelles techniques. Carl Ludwig met au point vers 1860 la perfusion d'organes isolés, puis vient la méthode sur tranches minces de tissus et les techniques de mesure des échanges gazeux (appareil de Warburg). L'utilisation d'inhibiteurs enzymatiques, le marquage moléculaire par des isotopes stables, à partir des années 1930, puis par des isotopes radioactifs (C, P, ...), principalement à partir des années 1950, contribuent largement à la caractérisation des voies métaboliques. Les années 1950 voient également l'émergence des méthodes de culture in vitro des cellules animales, et de séparation des organites cellulaires, permettant une analyse des échanges métaboliques à l'échelle subcellulaire. L'introduction des

techniques de Résonance Magnétique Nucléaire (RMN) permet, dans les années 1980, le retour à l'étude du métabolisme cellulaire in vivo.

### **I.3.2.1. La glycolyse**

Arthur Harden (1865-1940) et William Young (1878-1942) montrent en 1906 que le phosphate est nécessaire à la fermentation du glucose par des extraits acellulaires de levure. Ils ouvrent ainsi la voie, dans les années 1920-1930, à l'identification, par eux-mêmes et d'autres groupes, des intermédiaires phosphorylés de la glycolyse. L'identification de tous les intermédiaires de cette voie, chez la levure et dans le tissu musculaire, par les équipes de Gustav Embden (1874-1933) et d'Otto Meyerhof (1884-1951) aboutit à la démonstration que ce sont des étapes identiques catalysées par des enzymes similaires qui conduisent du glucose au pyruvate dans ces deux systèmes. Etendu à d'autres systèmes vivants, dont les bactéries, ce constat montre que la glycolyse est une voie métabolique quasi-universelle, conservée au cours de l'évolution. La découverte de l'adénosine triphosphate (ATP), en 1929, par Karl Lohmann (1898-1978), et celle d'autres dérivés phosphorylés, débouche sur la notion de mise en réserve de l'énergie dans ces composés : en 1941, Fritz Lipmann (1899-1986) développe le concept de liaisons riches en énergie. Au cours de la même période, les travaux du groupe d'Otto Warburg (1883-1970), et ceux de Theodor Bücher (1914-1997), démontrent la possibilité de couplage entre une réaction d'oxydoréduction (réduction du NAD<sup>+</sup> en NADH, H<sup>+</sup>) et la synthèse d'ATP à partir d'ADP grâce à la formation, par incorporation de phosphate inorganique, d'un intermédiaire à haut potentiel de transfert de groupement phosphorylé (« phosphorylation au niveau du substrat »).

A partir des années 1960, se développe l'étude des régulations métaboliques à l'échelle moléculaire. Ainsi, l'observation que le flux glycolytique, dans la levure ou le muscle, peut adopter un régime oscillatoire, et la mise en évidence des propriétés allostériques d'enzymes clés de la glycolyse et du métabolisme du glycogène, débouchent sur l'analyse fine de la régulation de la glycolyse et, au niveau physiologique, sur celle de la glycémie. (<https://fr.wikipedia.org/wiki/Biochimie>)

### **I.3.2.2. La respiration cellulaire**

En 1857, Louis Pasteur avait observé que l'aération d'un bouillon de levure stimulait la croissance d'une population de levures, et provoquait une diminution de la production d'alcool

par la fermentation. Cet « effet Pasteur » traduisait une meilleure récupération d'énergie à partir de la dégradation du glucose en présence d'oxygène, et correspond à la respiration cellulaire. Dans la première moitié du XX<sup>e</sup> siècle, les travaux des groupes dirigés par Heinrich Wieland (1877-1957) et Otto Warburg, et ceux d'Albert Szent-György (1893-1986), portant sur les réactions de déshydrogénation/réduction et d'oxydation, convergent finalement vers la compréhension que le dioxygène est réduit en H<sub>2</sub>O par des électrons libérés par des déshydrogénases à partir de métabolites, au cours de la respiration par des déshydrogénases à partir de métabolites, au cours de la respiration cellulaire. La découverte des cytochromes par Keilin (1887-1963) et son groupe entre 1925 et 1940, et celle des coenzymes NAD et FMN vient compléter la reconstitution de la chaîne respiratoire. Etudiant le rôle des acides dicarboxyliques à quatre atomes de carbone, Albert Szent-György suggère qu'ils constituent un lien entre les nutriments et la chaîne des cytochromes ; cette découverte joue un rôle essentiel dans celle du cycle de l'acide citrique (cycle de Krebs) par Hans Adolf Krebs (1900-1981) en 1937. En 1930, Vladimir Engelhardt (1894-1971) montre l'existence d'un lien entre la respiration cellulaire et le métabolisme du phosphate. Dans les années 1940, Severo Ochoa (1905-1993), montre, dans des homogénats tissulaires de rats incubés avec des substrats du cycle de Krebs, la relation entre la quantité de phosphate incorporé dans l'ATP et la quantité de dioxygène consommé : la notion de phosphorylation oxydative est en place. En 1948-50, Eugene Kennedy (1919-) et Albert Lehninger (1917-1986) montrent que, chez les eucaryotes, la mitochondrie est le site du cycle de Krebs, de la phosphorylation oxydative et de la  $\beta$ -oxydation des acides gras. En 1961, Peter Mitchell (1920-1992) propose la théorie chimiosmotique de la phosphorylation oxydative. Dans les années 1960-1970, les groupes de Paul Boyer (1918-) et de John E. Walker (1941-) élucident la structure et le mécanisme moléculaire de fonctionnement de l'ATP synthétase. En 1981, Frederick Sanger et son groupe de Cambridge publient la séquence et l'organisation de l'ADN mitochondrial humain.

([https://fr.wikipedia.org/wiki/Respiration\\_cellulaire](https://fr.wikipedia.org/wiki/Respiration_cellulaire))

### **I.3.3. Biochimie des régulations**

En 1902, les physiologistes Ernest Starling (1866-1927) et William Bayliss (1860-1924) montrent que la stimulation du duodénum agit sur la sécrétion pancréatique par l'intermédiaire d'un facteur transporté par le sang. Sur la base de cette observation, ils introduisent le concept de signalisation chimique, et créent le terme d'hormone. La théorie des « humeurs » diffusée

par Hippocrate (460- ~ 370 av. J.-C.) devient obsolète. Au même moment, l'étude des causes du diabète conduit à la mise en évidence du rôle du pancréas dans la régulation de la glycémie, et à la découverte que les cellules des îlots de Langerhans secrètent le facteur « antidiabétique » : Jean de Meyer (1878-1934) propose d'appeler ce facteur insuline (« dans les îlots »). Les interactions entre médecine et chirurgie expérimentale conduisent au cours du XX<sup>e</sup> siècle à la découverte et la caractérisation fonctionnelle de nombreuses hormones. Le premier facteur de croissance cellulaire est découvert en 1952 par la neurobiologiste Rita Levi-Montalcini (1909) : il s'agit du facteur de croissance nerveux (NGF), qui provoque une croissance rapide des cellules nerveuses.

**(Consulté le 3 juillet 2018. URL: <http://www.universalis.fr/encyclopedie/biochimie/>)**

Le concept de signalisation chimique et l'observation de la capacité des cellules à répondre à des stimuli externes vont de pair. Ils posent la question des mécanismes par lesquels une information de nature chimique est perçue par la cellule et déclenche une réponse cellulaire. Dans les années 1930-1940, Gerty Cori (1896-1957) et Carl Cori (1896-1984) avaient montré que la libération de glucose à partir du glycogène était due à une activation de la glycogène phosphorylase. Au début des années 1950, Earl Sutherland (1915-1974) découvre l'adénosine monophosphate (AMP) cyclique, messenger chimique essentiel dans la voie de signalisation qui conduit de la stimulation des cellules hépatiques par l'adrénaline à l'activation de cette enzyme. L'AMP cyclique apparaît par la suite, aussi bien chez les procaryotes que chez les eucaryotes, comme un signal de difficulté d'approvisionnement en énergie. Dans les années 1950 également, Edwin Krebs (1918-) et Edmund Fisher (1920-) montrent que la stimulation par l'adrénaline provoque la phosphorylation de la glycogène phosphorylase sur des résidus de sérine. Les travaux ultérieurs de nombreuses équipes ont mis en évidence le rôle essentiel de la phosphorylation des protéines dans la signalisation cellulaire. Parmi ceux-ci, la démonstration, en 1974, par J. Michael Bishop (1936-), Harold Varmus (1939-) et Dominique Stéhelin (1943) que l'oncogène viral v-src, codant pour une forme mutée de la protéine tyrosine kinase SRC, possède un équivalent cellulaire, c-src, a ouvert la voie de la cancérologie moléculaire moderne.

Appréhender la signalisation chimique à l'échelle cellulaire et de l'organisme, c'est non seulement décrire les différents partenaires moléculaires qui constituent les différentes voies de signalisation, mais aussi identifier les principes généraux d'organisation et de régulation de ces voies. Une avancée importante dans ce domaine a été la mise en évidence de mécanismes de rétrocontrôles. On doit à Richard Yates (1930) et Arthur Pardee (1921), dans les années 1950,

la démonstration que la cytidine triphosphate (CTP) régule négativement le flux au sein de la chaîne métabolique qui conduit à sa biosynthèse, en inhibant l'activité de l'enzyme qui catalyse la première réaction de cette voie, l'aspartate transcarbamylase. Le CTP se fixe sur un site spécifique à la surface de cette enzyme allostérique et provoque un changement conformationnel qui l'inhibe. Issues de ces travaux précurseurs, les recherches visant à élucider les bases moléculaires de l'homéostasie métabolique et de l'adaptation des cellules et des organismes aux modifications de leur environnement débouchent aujourd'hui sur la notion de réseaux de signalisation. Au sein de ces réseaux, les nombreuses interactions entre les protéines et d'autres classes de molécules (ions, métabolites, lipides membranaires, ARN,...) permettent la propagation de l'information, notamment à partir des récepteurs de surface. En ce qui concerne les protéines et les ARN, on parle d'interactome, ensemble des interactions que ces macromolécules peuvent échanger au sein d'une cellule ou d'un organisme. On assiste parallèlement au développement de la métabolomique et de la métabonomique qui étudient, respectivement, l'état métabolique (métabolome) des cellules suite à un traitement (vision analytique), et le profil métabolique global d'un système vivant en réponse à des stimuli chimiques, biologiques ou génétiques.

Les frontières traditionnelles entre les champs d'investigation de la biochimie, de la biologie moléculaire et de la biologie cellulaire s'estompent, et l'on assiste à l'émergence d'un champ disciplinaire intégré. Ainsi, des signaux de prolifération, de survie ou de mort cellulaire sont directement connectés à des modifications du statut métabolique des cellules et de leur besoin en énergie, en fonction des conditions imposées par leur environnement. Des partenaires protéiques initialement décrits comme régulateur de la prolifération ou de la survie cellulaire se révèlent être également des régulateurs essentiels de voies métaboliques.

Le défi majeur actuel concerne la compréhension du fonctionnement intégrées des réseaux biochimiques, qui mobilise des disciplines au-delà de la biologie, dont les biomathématiques. (<https://biochimie.umontreal.ca/departement/>)



## **Chapitre 02 : Quelques prélèvements utiles en biochimie clinique chez les Animaux**

Le résultat des prélèvements peut aussi dans certains cas dépendre d'une parfaite maîtrise de l'animal.

### **II.1. Contention chez les animaux**

Les moyens dont dispose le praticien sont insuffisants pour assurer la contention des animaux, une bonne immobilisation est indispensable à la sécurité du vétérinaire et de ses aides.

**DONIOL-VALCROZE J.,2001.** Histoire de la contention et de l'anesthésie vétérinaire. Thèse: Méd. Vét.: Alfort.

Les méthodes de contention des animaux que l'on souhaite examiner ou opérer, répondent donc à des règles et des techniques précises.

### **II.2. Le prélèvement de sang :**

Le prélèvement de sang est sans doute le plus utilisé par les praticiens car il est facile à réaliser et il existe de très nombreuses analyses développées dans le diagnostic des pathologies les plus diverses, rendant son utilisation incontournable.

#### **II.2.1. Indications**

Les indications sont très nombreuses. C'est la raison pour laquelle, le prélèvement de sang est sans doute le plus pratiqué. Le prélèvement constitue une étape importante de l'analyse médicale car il conditionne la fiabilité des résultats. **NDOUR A., 1999.** Bilan d'activités du laboratoire d'analyses médicales du centre de santé de Rufisque. Thèse : Pharm. : UCAD ; 66

Il permet d'évaluer toutes les fonctions de l'organisme :

La fonction cardiovasculaire mais aussi les fonctions hépatique, rénale, digestive, locomotrice, reproductrice et métabolique. Ce prélèvement peut être intéressant dans de nombreuses disciplines : cela va de l'étude hématologique à la recherche de parasites, de la biochimie à la sérologie, de l'enzymologie à la toxicologie.

Même si ce prélèvement n'est pas toujours le plus adapté, il donne souvent une indication pour la réalisation d'examen complémentaires et permet, en un acte, d'évaluer plusieurs organes

## II.2.2. Technique

**Figure 1 : prélèvement du sang au niveau du veine caudale**



La technique est simple. Le plus souvent, on peut prélever indifféremment du sang. On utilise en général la ponction de la veine saphène ou de la veine céphalique chez les carnivores domestiques, la veine jugulaire, veine caudale et aussi la veine auriculaire chez les ruminants.

La veine alaire ou jugulaire chez la volaille. Le choix se fait en fonction du mode de contention des animaux. Le matériel de prélèvement consiste en une aiguille montée sur seringue de volume adéquat. Il existe des systèmes qui permettent de mettre le sang directement dans un tube. C'est le vacutainer :

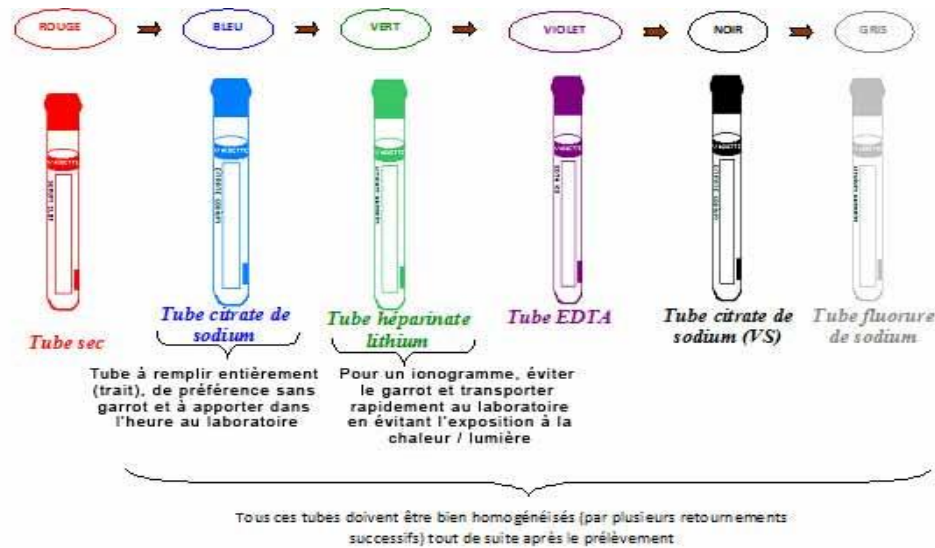
Vacutainer : est une marque déposée de Becton-Dickinson. Elle a été développée en 1947 par Joseph Kleiner et est apposée sur une série de tubes sous-vide utilisés lors d'une ponction veineuse, ainsi que sur un support appelé "tulipe" permettant l'adaptation d'une aiguille d'un côté et de ces tubes de l'autre.). Il se compose d'une aiguille qui pique dans la veine d'un côté et dans un tube sous vide de l'autre côté. ("www.dutscher.com)

## II.2.3. Bonnes pratiques

En fonction de l'analyse demandée, il faut un tube avec un conservateur particulier ou sans conservateur le cas échéant. On utilise ainsi :

- Un tube à EDTA pour l'hématologie.
- un tube citraté pour l'étude de la coagulation (fibrinogène).
- un tube hépariné pour l'équilibre acido-basique.

□ un tube héparine si l'analyse se fait sur sang total ou un tube sec si c'est sur sérum pour les analyses biochimiques et un tube avec oxalate pour éviter la glycolyse (glucose et lactates) et conserver les plaquettes. Les conditions de prélèvement ont également leur importance car en cas de stress, on observe une neutrophilie et une hausse de la glycémie par exemple. Il faut en tenir compte lors de l'interprétation.



**Figure 02 : Les différents tubes de prélèvements**

La conservation doit se faire dans l'idéal au froid. Il ne faut pas que la glace rentre directement en contact avec le tube de verre sous peine de faire geler le prélèvement, rendant l'analyse ininterprétable. Lorsqu'on a besoin de sérum, il faut laisser quelques heures à température ambiante pour que le caillot se forme.

Il faut noter avec soin l'identification de l'animal afin de ne pas mélanger les tubes lors de prélèvement en série. Les laboratoires possèdent du matériel pour doser les électrolytes et les enzymes sériques, ce qui permet après avoir réalisé un traitement de première intention, de voir pourquoi l'animal n'est pas guéri.

Les résultats pouvant être obtenus en moins d'une demi-journée. Il reste de nombreux domaines où le recours au laboratoire est d'une grande importance.

C'est le cas en particulier de l'infectiologie.

Le prélèvement de sang est utilisé très fréquemment en médecine vétérinaire et de nombreuses analyses sont réalisables au laboratoire. Après des analyses plus poussées mais dont les résultats sont plus longs à obtenir, il est possible de faire un traitement étiologique de

l'animal. Le sang permet de relier les fonctions entre elles par le transport des molécules et des anticorps. C'est pourquoi, il est possible de diagnostiquer certaines maladies par des analyses réalisées sur ce substrat et les résultats permettent de mettre en place par la suite des prélèvements plus adaptés.

### **II.3. Le prélèvement d'urine :**

Le prélèvement d'urine est un prélèvement encore très utilisé. Sa réalisation est facile une fois que la technique est maîtrisée.

#### **II.3.1. Indications**

Les indications diagnostiques concernent d'une part les maladies de l'appareil urinaire et d'autre part les maladies d'autres organes. Grâce à ce prélèvement, il est possible de détecter des maladies touchant au tractus urinaire.

C'est le cas par exemple de la pyélonéphrite, d'une insuffisance rénale ou d'une cystite (**BLOOD et al., 2000; ROSENBERGER, 1979**). On peut également analyser l'urine afin de vérifier si elle contient du sang. Certaines analyses ne nécessitent qu'un seul échantillon, pour autres, un prélèvement sur 24heures pourrait être nécessaire. Parfois, on procède à une « culture » des échantillons afin de savoir quel type exact de bactéries s'y développent. Mais il permet également d'étudier des maladies produisant des métabolites qui sont éliminés par l'urine. Ainsi, le prélèvement d'urine peut être utile pour rechercher une cétose, une insuffisance hépatique, une hémolyse intra vasculaire, une lésion musculaire, une leptospirose ou une babésiose. Il est également possible de rechercher des éléments toxiques ou de doser des minéraux dans les urines (**BOUISSET, 2003 ; ROSENBERGER, 1979**).

#### **II.3.2. Techniques**

Il existe quatre méthodes pour prélever de l'urine : la miction volontaire, la vidange manuelle de la vessie, le cathétérisme et la cystocentèse. Du point de vue vétérinaire et technique, la cystocentèse est la méthode la plus adéquate. Il s'agit d'un prélèvement de l'urine par ponction de la vessie à travers la paroi abdominale.

#### **II.3.2. Bonnes pratiques**

Il faut faire une préparation aseptique (destruction des microorganismes) avant de faire le cathétérisme, car les souillures (sécrétions génitales ou fèces) modifient les résultats bactériologiques mais aussi biochimiques.

Il faut réaliser la bandelette urinaire immédiatement après la prise d'urine.

Réfrigération dans les 15 minutes suivant le moment du prélèvement ; d'où la possibilité de garder les urines pendant 6 h réfrigérées.

Il doit être conservé et transporté à 4°C.

Lors de la mesure de la densité avec un réfractomètre, il est nécessaire de la faire à 20°C. Cela doit être assez rapide car il y a des risques d'évaporation qui font augmenter artificiellement la densité et la concentration protéique.

## **II.4. Analyses pratiquées :**

En biochimie clinique, il existe deux types d'analyses : l'analyse physique et l'analyse chimique. L'analyse d'urine peut être faite avec l'aide de bandelette urinaire, de pH-mètre, de réfractomètre.

## **II.5. Analyse physique**

L'analyse physique de l'urine se fait aisément et rapidement. Elle ne permet à elle seule aucun diagnostic final, ce n'est qu'en association avec les examens chimiques et microscopiques qu'elle devient valable.

L'examen physique inclut l'évaluation de :

- la couleur.
- la turbidité.
- la densité.

### **II.5.1. Couleur :**

La couleur de l'urine normale va de transparente à jaune foncé. Cette coloration jaune provient principalement du pigment urochrome, d'une faible quantité d'urobiline non combinée et d'uroérythrine. Une urine de couleur rouge est une raison importante de consultation. Ainsi, il faut cependant mentionner que la myoglobine est éliminée dans l'urine assez rapidement pour ne pas causer une coloration.

### **II.5.2. Turbidité :**

Une urine normale devrait être transparente. Ainsi, une urine trouble accompagne souvent une quantité importante de leucocytes sauf chez le cheval.

### **II.5.3. Concentration en soluté (densité) :**

La densité urinaire est très importante et elle doit être effectuée lors de chaque analyse. Elle se définit comme le ratio du poids de l'urine sur le poids d'un volume égal d'eau pure, les deux liquides étant à la même température.

La concentration en soluté peut être évaluée à l'aide d'un osmomètre (osmolalité), d'un urinomètre (gravité spécifique) ou d'un réfractomètre (indice de réfraction)

Il est aussi possible d'évaluer la densité urinaire au bâtonnet chimique, mais cette méthode est peu précise et sujette à l'erreur. Ainsi, il pourra y avoir une fausse diminution lorsque l'urine est alcaline et une fausse augmentation lorsqu'il y a une protéinurie supérieure à 1g/L ou du milieu de contraste dans l'urine (**WILLARD et al., 1989**). L'évaluation d'une seule densité urinaire ne permet aucun diagnostic car cette densité peut varier beaucoup pendant la journée. Elle est influencée par l'équilibre électrolytique de l'animal ainsi que par son alimentation. (**OSBORNE et STEVENS, 1981**)

## **II.6. Analyse chimique :**

### **II.6.1. La bandelette urinaire :**

#### **II.6.1.1. Principe et mode d'utilisation :**

Les bandelettes urinaires standards permettent d'évaluer neuf paramètres urinaires par une lecture comparative avec une gamme colorimétrique. Ces paramètres correspondent à des substances normalement absentes ou présentes à l'état de traces dans l'urine. Chaque plage réactive correspond à un paramètre. Les réactions sont de trois types : elles sont soit catalysées par une enzyme, soit utilisent un indicateur coloré ou encore, elles utilisent des systèmes échangeurs d'ions. Ces réactions sont détaillées pour chaque plage réactive dans les paragraphes suivants. De plus, lors de réactions positives ou douteuses, il faut les confirmer ou les infirmer par des examens biologiques supplémentaires. En effet, la bandelette permet d'orienter nos hypothèses et elle n'a qu'une approche semi-quantitative. En revanche, lors de réactions négatives, la confirmation n'est pas nécessaire (**BOUISSET, 2003**). De plus, afin que les résultats ne soient pas faussés, il faut s'assurer que la date de péremption ne soit pas dépassée.

L'urine utilisée pour la bandelette urinaire doit être fraîchement émise (entre 10 secondes et 1 minute maximum) et homogénéisée mais non centrifugée. La bandelette réactive est plongée dans l'urine et retirée immédiatement (**BOUISSET, 2003**) ou l'urine est déposée goutte à goutte sur la bandelette à l'aide d'une seringue (**GUATTEO, 2007**). On élimine ensuite l'excédent de liquide en passant la tranche de la bandelette sur le rebord du récipient ou en la tamponnant brièvement sur du papier. Celle-ci doit être placée horizontalement en attendant la lecture pour éviter toute interférence des réactifs des plages voisines (**BOUISSET, 2003**). La lecture doit se faire après 30 à 60 secondes d'attente (voire 1 à 2 minutes pour les leucocytes) : en effet, les changements de couleur qui se produisent après 2 minutes n'ont pas de valeur. La

lecture est permise par comparaison avec l'échelle colorimétrique présente sur la boîte (Figure 34) (**ROSENBERGER, 1979**).

L'urine est physiologiquement transparente et sa couleur jaune dépend de sa concentration en urochrome. Lorsqu'elle est rouge-brunâtre, cela oriente vers une hémoglobinurie, associée à une hémolyse intravasculaire ou vers une myoglobinurie, associée à d'importantes lésions musculaires. En outre, une urine rouge à rosée évoque une hématurie rencontrée lors d'affections urinaires hautes ou basses.

La consistance de l'urine nous apporte également des informations importantes. Elle est normalement aqueuse ; si elle devient visqueuse, cela signe généralement une pyurie. En revanche, si elle est mousseuse, des pigments biliaires ou de l'amyloïde sont présents. Enfin, si elle est trouble, on est en présence de pus ou de bactéries dans l'urine.

#### **a- Glucose :**

La réaction emploie deux enzymes, la glucose oxydase et la peroxydase. (**BOUISSET, 2003**) Le seuil de détection de la plage étant situé entre 0,4 et 1g/L. (**GUATTEO, 2007**) Une glycosurie apparaît pour une valeur de glycémie supérieure à 1,8g/L. (**GUATTEO, 2007**) Lors de glycosurie, il faut corrélérer obligatoirement ce résultat avec une glycémie, car on a une glycosurie en cas (i) d'hyperglycémie possiblement induite lors d'injection de solution glucosée en intraveineuse ou de cortisone ou simplement liée au stress, (ii) de troubles généraux (la maladie des muqueuses ou l'hypocalcémie) ou (iii) de troubles tubulaires. On rencontre des faux-négatifs lors de diurèse importante associée à une faible glycosurie, de forte cétonurie, de présence de salicylés ou d'acide ascorbique, ou encore de multiplication bactérienne. En outre, la présence d'oxydants dans une verrerie mal rincée, des résidus de pénicilline, de tétracycline ou autres antibiotiques peut engendrer des faux-positifs. (**BOUISSET, 2003 ; DIVERS, 2008 ; GUATTEO, 2007**) On utilise donc plutôt ce test en pratique afin d'apporter de façon raisonnée du glucose par voie parentérale au veau.

#### **b- Bilirubine :**

Le seuil de détection de cette plage est de 2 à 4mg/L et la réaction se base sur la conjugaison de la dichloroniline azotée à pH acide. Il existe des faux-négatifs en cas d'oxydation à la lumière ou de présence d'acide ascorbique ou de chlorhexidine. (**BOUISSET, 2003**)

Cette plage n'est interprétable qu'en cas de positivité ; elle est souvent associée à un ictère important qui est un signe d'atteinte hépatique sévère. Dans ce cas, il est nécessaire de faire une biochimie sanguine (bilirubine, GGT : Gamma-Glutamyl Transpeptidase, ASAT), une

coprologie parasitaire (recherche de fasciolose et de distomatose) ainsi qu'une sérologie pour la leptospirose et la fasciolose. **(RADIGUE, 2003a)**

#### **c- Corps cétonique :**

La révélation des corps cétoniques est fondée sur le virage d'un indicateur coloré, le nitroprussiate de sodium. On détecte, grâce à la bandelette, l'acétoacétate et l'acétone. **(BOUISSET, 2003)** Le seuil de détection de cette plage est très faible (10 mg/100mL), la recherche est donc plus sensible dans l'urine que dans le lait. **(GUATTEO, 2007 ; ROSENBERGER, 1979)**

La réaction dépend de la concentration urinaire en corps cétoniques, dont la teneur normale est inférieure à 1,5mg/L. **(ROSENBERGER, 1979)** Par la bandelette, on a une information semi-quantitative du taux de corps cétoniques en tenant compte de la vitesse et de l'intensité de la réaction. Si elle est forte et rapide (1 à 2 secondes), alors on est face à une cétose primaire avec une lipomobilisation intense (lors de syndrome de la vache grasse par exemple), une biochimie sanguine peut aider (glycémie, BHB : Bêta-Hydroxybutyrate, AGNE : Acide Gras Non Estérifié, GGT, ASAT). Lors de réaction moins rapide et moins intense, la cétose est plutôt secondaire à un jeûne prolongé. Dans ce cas, il peut être intéressant de faire une ponction abdominale ou thoracique pour rechercher une péritonite ainsi qu'une biochimie sanguine (glycémie, BHB, ASAT, AGNE, Ca, P, Mg, K, urée, GGT) **(RADIGUE, 2003a)**. Dans le cas de multiplication bactérienne, on peut avoir des faux-négatifs **(BOUISSET, 2003)**. De plus, la teneur en corps cétoniques dépend de la quantité d'urine émise : ainsi, beaucoup de faux-positifs sont envisageables **(VANDEPUTTE, 2003)**.

#### **d- pH urinaire :**

La réaction est fondée sur le virage de deux indicateurs colorés, le rouge de méthyle et le bleu de bromothymol.

Le pH de l'urine dépend essentiellement de l'excrétion du bicarbonate et du potassium et peut varier en fonction de la ration alimentaire. Le pH normal de l'urine d'un veau monogastrique se situe entre 6,5 et 7 alors que celui de l'urine d'un veau sevré et ruminant se trouve entre 7,8 et 8,25. Un pH entre 5 et 6,5 est considéré acide pour un veau non sevré alors qu'on considère un veau comme acidurique si le pH est inférieur à 7,8 pour un veau sevré **(RADIGUE et ELBE, 2007)**. L'acidurie apparaît lors de jeûne prolongé, de sous-alimentation physiologique ou pathologique, par inappétence, d'arrêt du transit digestif, de cétose ou d'acidose ruminale. S'il n'y a pas d'arrêt du transit lié à une dilatation de caillette, une



obstruction intestinale ou un ulcère de la caillette, l'hypothèse d'une acidose métabolique peut être émise. Il peut exister une acidurie paradoxale lors d'un arrêt du transit, en effet, l'hypokaliémie, l'hypochlorémie et l'hyponatrémie engendrent une alcalose métabolique, le rein donne donc la priorité aux électrolytes en gardant le Na<sup>+</sup>, donc le Cl<sup>-</sup> et en excréant les ions H<sup>+</sup>. Enfin, à un pH très basique, supérieur à 7,5 pour un veau non sevré et supérieur à 8,3 pour un sevré, le veau est considéré en alcalose métabolique, ce qui nous oriente vers un arrêt du transit de moins de 24 heures ou vers une infection/contamination bactérienne des voies urinaires (**RADIGUE, 2003a; RADIGUE et ELBE, 2007 ; ROSENBERGER, 1979**). Cependant, pour certains auteurs GUATTEO, 2007 la valeur de pH urinaire ne permet pas de refléter le pH sanguin car de trop nombreux paramètres rentrent en compte alors que pour d'autres, le pH urinaire est corrélé au pH sanguin mis à part lors d'alcalose métabolique avec acidurie paradoxale. Ceci fait alors du pH urinaire un très bon marqueur du statut acido-basique pour les veaux (**RADIGUE et ELBE, 2007**).

#### **e- Protéines :**

La réaction de cette plage est fondée sur le virage d'un indicateur coloré, le bleu de bromophénol à pH3, principalement en présence d'albumine (**BOUISSET, 2003**). Il faut savoir qu'une concentration en protéines dans l'urine inférieure à 10mg/L est physiologique, cette concentration n'étant pas détectable avec la bandelette urinaire ou le test de Heller (2.3.3) : une réaction positive est donc toujours considérée comme pathologique. Cependant, la bandelette ne détecte l'albumine qu'à partir d'un seuil de 50mg/L ce qui laisse un intervalle de valeur de protéinurie pathologique sans détection (**GUATTEO, 2007**).

La présence massive de protéines et d'albumine dans l'urine est anormale et signe une inflammation du tractus urinaire (origine rénale ou post-rénale) ou un état fébrile (symptomatique d'une maladie fébrile généralisée), hormis lorsqu'elle survient temporairement à la suite d'un transport. A noter, que des traces de protéines ou de sang peuvent se trouver dans l'urine lors du sondage urinaire et de prélèvement par cystocentèse.

Il est nécessaire d'effectuer en parallèle une biochimie sanguine, notamment le dosage de l'albuminémie, afin d'obtenir des informations complémentaires sur la localisation de l'affection.

Une protéinurie élevée, avec une hypoalbuminémie finale, traduit une atteinte glomérulaire ou d'autres maladies rénales sévères, alors qu'au contraire, une protéinurie faible montre une perfusion rénale réduite ou la présence d'infarctus rénaux suite à une déshydratation

sévère. Enfin, un résultat positif est présent lors de cystite, d'urolithiases, de traumatisme ou de tumeur car ces affections induisent la production de protéines de l'inflammation. De plus, chez les veaux de moins de 3 jours une protéinurie à 20g/l, qui reviendra à la normale par la suite, est normale. Celle-ci provient de l'ingestion du colostrum et du passage des  $\beta$ -lactoglobulines du sang vers les urines.

Les globulines sont dégradées lors de la filtration par le rein et ne sont donc pas retrouvées intactes dans l'urine (**DIVERS, 2008 ; MCDOUGALL, 1965 ; RADIGUE, 2003a ; ROSENBERGER, 1979**).

Cependant, l'interprétation est souvent délicate car les faux positifs sont nombreux surtout en cas d'urines trop concentrées ou alcalines ou de souillures lors du prélèvement (**BOUISSET, 2003 ; GUATTEO, 2007**). Il faudra donc privilégier la réfractométrie, le test de Heller ou le test à l'acide sulfosalicylique (ASS) qui sont des tests beaucoup plus fiables. Pour être encore plus spécifique, on peut effectuer une mesure de protéinurie et de créatininurie et calculer un ratio protéinurie/créatininurie (**DIVERS, 2008**).

Afin de trouver la localisation de l'atteinte rénale, on peut doser la créatinine (grâce à un automate prenant en charge ce paramètre) et les protéines urinaires afin de se servir du rapport. En effet, le rapport protéines/créatinine urinaires est supérieur à 10 dans les cas d'insuffisance rénale aiguë d'origine rénale, d'amyloïdose ou de syndrome néphrotique. Pour les valeurs inférieures, elles sont moins fiables et nous n'avons pas de valeur pour les bovins (**DIVERS, 2008 ; MEDAILLE et BRIEND-MARCHAL, 2008**).

#### **f- Urobilinogène :**

La réaction, qui est entravée lors d'oxydation à la lumière fait intervenir le Paradiméthylaminobenzaldéhyde à 2% en milieu acide. Son seuil de détection est de 10 mmol/L (**BOUISSET, 2003**). Elle traduit une atteinte hépatique.

#### **g- Densité :**

La réaction est fondée sur un système échangeur d'ions et un indicateur coloré, le bleu de bromothymol.

La densité permet d'évaluer indirectement la diurèse mais également de valider l'ensemble des paramètres de protéinurie, de leucocyturie, d'hématurie et de glycosurie (**BOUISSET, 2003**).

La densité urinaire normale d'un veau se situe entre 1,005 et 1,012g/mL. Celle-ci apporte une information très importante dans le cas de veau diarrhéique : en effet si la valeur est supérieure à 1,015g/mL, le veau est déshydraté et nécessite une réhydratation orale et/ou

intraveineuse (**RADIGUE et ELBE, 2007**). La densité normale d'un bovin adulte se trouve entre 1,020 et 1,040g/mL, elle est fonction de la capacité rénale à concentrer l'urine mais également de la dynamique hydrique et de l'élimination de certains composés (le glucose par exemple). (**GUATTEO, 2007**). Afin d'interpréter la densité urinaire, il faut constamment la corrélérer avec l'état d'hydratation ou la consommation d'eau de l'animal ; en effet, en cas de déshydratation, l'urine est concentrée alors que si la consommation est plus importante la densité sera faible. De plus, elle peut être incorrectement augmentée suite à la présence de substances en quantité anormalement élevée (hématurie, bilirubinurie) (**GUATTEO, 2007 ; VANDEPUTTE, 2003**).

Lors d'insuffisance rénale aiguë post-rénale et lors d'obstruction par des calculs des voies urinaires, la densité urinaire est normale.

Si l'animal est constamment en isosthénurie, c'est-à-dire que la densité urinaire et la densité du filtrat glomérulaire sont identiques (densité urinaire inférieure à 1,020g/mL chez la vache), ceci suggère une absence de concentration urinaire, même après arrêt de l'abreuvement, ce qui souligne la capacité insuffisante des reins à concentrer l'urine (**ROSENBERGER, 1979**).

On aura une isosthénurie en cas d'insuffisance rénale. En cas d'insuffisance rénale aiguë, la densité ne sera pas forcément isosthénurique mais elle ne dépassera pas 1,022g/mL en cas de déshydratation (**DIVERS, 2008**), elle sera normale lorsque l'origine est post-rénale dans les cas d'obstruction des voies urinaires (**MEDAILLE et BRIEND-MARCHAL, 2008**).

Afin d'avoir une valeur de densité plus précise, il est préférable d'utiliser un réfractomètre

#### **h- Sang :**

La réaction de cette plage est enzymatique, fondée sur la propriété pseudo-peroxydasique de l'hémoglobine. Le seuil de détection de cette plage est de 1mg/L d'hémoglobine. Cette plage réagit en cas d'hématurie, d'hémoglobinurie ou de myoglobinurie dont nous avons vu les causes probables précédemment dans le 2.2.1.1. Elle peut également réagir lors de sondage urinaire par la présence de sang et de protéines d'origine iatrogène mais aussi lors de la cystocentèse où la présence de sang due au prélèvement n'est pas à exclure. Lors d'hémoglobinurie, la coloration sera « ponctuée » alors qu'en cas d'hématurie, la coloration sera homogène. Il existe de faux-négatifs si les urines sont trop concentrées ou lors de protéinurie. On a également des faux -positifs si de nombreux leucocytes ou des oxydants sont présents

(BOUISSET, 2003). De plus, si le résultat est positif alors que l'urine apparaît claire, il faut privilégier l'hypothèse du microtraumatisme lors de la récolte de l'urine (GUATTEO, 2007).

**i- Nitrite :**

Cette plage n'a pas d'application en bovine.

**g- Leucocytes :**

La réaction de cette plage est enzymatique, elle vient de la détection des estérases de polynucléaires neutrophiles qui apparaissent lors de la réaction inflammatoire.

Cette plage réagit lors de pyurie (pyélonéphrite ou cystite), cependant sa spécificité est forte mais sa sensibilité est faible et son seuil de détection assez élevé. De plus, si la réaction est positive alors qu'il y a absence de pyurie, il faut réaliser un examen microscopique des urines afin d'évaluer l'importance de la leucocyturie. (BOUISSET, 2003 ; GUATTEO, 2007)

\*Le laboratoire de biochimie du PR Bezille propose au total 21 paramètres sanguins.

**enzymes :**

- Transaminase glutamique oxaloacétique (ASAT ou GOT)
- Transaminase glutamo- pyruvique (ALAT ou GPT)
- Phosphate alcalin (PAL)
- Lactate déshydrogénase (LDH)
- Créatinine phosphokinase (CPH)
- Gama glutamyl transférase (GGT)

**ions constituants inorganiques du plasma :**

- Calcium
- Phosphore
- Magnésium
- Sodium
- Potassium
- Chlore
- Reserve alcaline

**constitutions organiques du plasma :**

- Urée
- Créatinine

- Glucose
- Albumine
- Bilirubine totale
- Fibrinogène
- Protéine totale
- Triglycérides

**Tableau 01 : Les intérêts des ions constituants inorganiques du plasma :**

<b>paramètres</b>	<b>Les intérêts</b>
Glycémie	détection des risques d'acidoses et de cétose
Urée sanguin	<ul style="list-style-type: none"> <li>• reflet du rapport PDIN/PDIE: reflet de la qualité de l'utilisation de l'azote de la ration par la *biomasse ruminale*</li> <li>• Urémie basse parfois à l'origine de sous-production, et de baisse du taux protéique ; infertilité</li> <li>• Urémie haute par fois a l'origine du rendement fromager , une surcharge hépatique , des avortements , l'enterotoxémie , l'infertilité</li> </ul>
calcium	détection du risque de fièvre vitulaire, peu fiable étant donné l'autorégulation sauf dans les heures autour du vêlage
Phosphorémie	Détection du risque de coma vitulaire (valable dans la semaine avant le vêlage)
Magnésium	Détection précoce du risque de tétanie
Bilirubine total	Évaluation de l'état de stéatose du foie
Cholestérol	Évolution de l'état stéatosique du foie
Protéine total	Sous nutrition, parasitisme, infection chronique

Globulines	Carence en oligoéléments (cobalt, fer, cuivre, magnésium), infection chronique
Albumines	Sous nutrition protéiques, parasitismes en particulier grande douve, carence en magnésium.

**Tableau 02 : Les intérêts des enzymes et des constitutions organiques du plasma**

<b>Paramètre</b>	<b>indication</b>
Urée	évaluation de la fonction rénale suspicion d'urolithiases valeur pronostique préopératoire d'un déplacement de caillette . valeur pronostique sur vache cochée . Suspicion de stéatose hépatique grave
Créatinine	évaluation de la fonction rénale Suspicion d'urolithiases . valeur pronostic sur vache cochée
Glucose	conformation d'un état cétosique
Protéine total	suspicion d'un foyer inflammatoire ou purulent chronique . Evaluation du degré de déshydratation . vérification de intégrité capillaire suspicion de tétanie d'herbage , si l'hypomagnesemie n'est pas flagrante . évaluation d'une fuite protéique au niveau du tractus digestif
Albumine	évaluation de l'État stéatosique ou fibrose du foie . Suspicion d'une excrétion rénale ou digestif accrue : néphrite, amyloïdose, entérite.

Cholestérol:	suspicion de stéatose Bilan hépatique
Triglycérides	Bilan hépatique (peu spécifique)
Bilirubine totale	ictère, suspicion de cholestase hémolyse Bilan hépatique
Fibrinogène	Caractérisation d'un processus inflammatoire actif (péritonite aigue par exemple) Valeur pronostique des processus inflammatoire Témoin de la souffrance musculaire, valeur pronostic sur vache cochée
CPK	Témoin de la souffrance musculaire, valeur pronostic sur vache cochée
ASAT-GOT	Témoin d'une cytolyse : souffrance musculaire ou hépatique :hépatite , stéatose , fasciolose, intoxication au Cu
ALAT-SGPT	témoin d'une cytolyse , en particulier hépatique
GGT	Évaluation de l'État des vois hépato-biliaires
LDH	peu spécifique :- témoin d'une atteinte tissulaire, en particulier lésion cellulaires hépatiques (stéatose) et lésions musculaires
PAL	suspicion d'atteinte hépatique ( peu spécifique ) intestinale , ou des tissus osseux Evaluation des voies biliaires

Calcium	<p>conformation d'hypocalcémie en cas de parésie post-partum a priori banale lors d'un échec thérapeutique .</p> <p>évaluation d'une état de choc toxinique .</p> <p>suspicion de tétanie d'herbage si l'hypomagneseemie n'est pas flagrante .</p> <p>évaluation de la gravite d'une néphrite</p>
Magnésium	suspicion de tétanie d'herbage
Chlore	<p>Evaluation du degré d'insuffisance rénale lors d'IRA .</p> <p>évaluation du degré d'alcalose métabolique lors de trouble digestifs occlusifs</p>
Phosphore	<p>parésie post-partum avec coma , et lors d'échec de traitement à base de sels de calcium essentiellement</p> <p>-diarrhée chronique (malabsorption)</p>
Potassium	<p>évaluation d'un état de choc. évaluation de la gravite d'une occlusion digestive.</p> <p>Valeur pronostic préopératoire d'une occlusion digestive .</p> <p>évaluation des pertes digestives lors de diarrhée aigue.</p> <p>évaluation du degré d'insuffisance rénale</p>
Reserve alcaline	évaluation du degré d'alcalose lors de troubles digestifs occlusifs
Sodium	<p>évaluation du degré de déshydratation ou de l'Etat d'un veau tête et/ou anorexique</p> <p>Evaluation du degré d'insuffisance rénale</p>



### **Chapitre 03 : Laboratoire**

Les résultats d'analyses de biologie médicale constituent des données décisives pour le diagnostic et la prescription des soins appropriés. A cet effet, la recherche de la qualité doit être la préoccupation constante de tout directeur du laboratoire. L'observation des règles de bonne pratique de laboratoire, est une des conditions déterminantes de cette qualité.

Ces règles s'adressent à toutes les personnes travaillant au sein des laboratoires d'analyses médicales ; toutes qualifications confondues. Elles constituent le plus souvent un rappel de tout ce qu'il convient de se procurer, d'organiser, de vérifier, de respecter, d'étudier et de conserver pour garantir la fiabilité des résultats d'analyses de biologie médicale, ainsi que leur rentabilité tout en assurant la sécurité du personnel et la protection de l'environnement.

#### **III.1. LES REGLES DE FONCTIONNEMENT**

##### **III.1.1. Obligations de la direction et des responsables des laboratoires dans l'organisation et l'exécution des analyses.**

L'ensemble du personnel du laboratoire est impliqué dans le système de management de la qualité, qui est placé sous l'autorité et la responsabilité du directeur de laboratoire .Norme internationale ISO 9000, 2005 : Système de Management de la Qualité : principes essentiels et vocabulaires

L'organisation du système de management de la qualité du laboratoire peut être déléguée par le directeur de laboratoire à une personne chargée de la gestion du système de management de la qualité qui devra avoir la formation et la compétence nécessaires pour accomplir cette tâche qui lui sera confiée.

Il est notamment tenu de :

##### **Concernant le personnel :**

- Etablir un organigramme du laboratoire.
- S'assurer qu'il y a suffisamment de personnel qualifié et qu'il dispose de la formation et de l'expérience appropriée et documentée et de l'expérience nécessaire pour répondre aux besoins du laboratoire.

- S'assurer que le personnel est apte aux tâches qui lui sont confiées et assurer la formation nécessaire à cet effet.
- Mettre à la disposition du personnel les procédures et modes opératoires ainsi que le présent guide
- Informer le personnel de la mise en place de toute nouvelle procédure et de leurs modifications ultérieures éventuelles.
- Superviser le personnel en formation.

**Concernant les procédures et modes opératoires :**

- S'assurer que les procédures et modes opératoires en vigueur vérifiés, approuvés et datés sont mis en œuvre par le personnel.
- S'assurer que toute modification justifiée de procédure est écrite, approuvée, enregistrée, datée, communiquée et que tout le personnel est formé à l'application de cette modification.
- S'assurer que le prescripteur est informé, sur les comptes rendus d'analyses, de toute modification de procédure susceptible de changer le libellé ou la remise des résultats afin d'éviter des interprétations erronées.
- Procéder, en cas de dysfonctionnement à toutes les opérations susceptibles de corriger les anomalies, s'assurer de l'enregistrement des mesures correctives entreprises et évaluer leurs résultats.
- S'assurer de la gestion réglementaire des archives. . Loi 2002-54 du 11 juin 2002

**Concernant les installations, l'équipement, l'instrumentation, les produits consommables et les réactifs :**

- S'assurer que les installations, l'équipement et l'instrumentation du laboratoire sont fonctionnels.
- S'assurer que les produits consommables sont appropriés.
- S'assurer que les réactifs sont disponibles, non périmés et conservés dans les conditions fixées par le fabricant.

- S'assurer que les installations, l'équipement, l'instrumentation, les produits consommables et les réactifs sont adaptés à l'évolution des connaissances scientifiques et des données techniques.
- S'assurer que les conditions ambiantes ne sont pas susceptibles d'affecter les résultats et/ou de perturber le fonctionnement des appareils.

#### **Concernant la sécurité du personnel :**

- S'assurer que les mesures concernant la santé et la sécurité du personnel ainsi que la protection de l'environnement sont appliquées conformément à la législation et à la réglementation en vigueur (réf. 1,4) ;
- S'assurer que les déchets sont manipulés, conservés et éliminés en prenant toutes les précautions nécessaires pour éviter les contaminations.

#### **Concernant les comptes rendus d'analyses :**

Le directeur du laboratoire doit, en accord avec les dispositions réglementaires :

- Valider les résultats des examens biologiques après s'être assuré de la conformité de leur exécution aux recommandations du présent guide ;
- Signer les comptes rendus d'analyses ;
- S'assurer que leur transmission se fait dans les délais compatibles avec leur bonne utilisation clinique et dans des conditions de confidentialité préservant le secret professionnel. **Loi 2002-54 du 11 juin 2002, relative aux laboratoires d'analyses médicales**

### **III.1.2. Personnel**

#### **III.1.2.1. Obligations**

Le personnel doit participer à la mise en place du système de management de la qualité du laboratoire et se conformer à toutes les procédures en vigueur.

Il a l'obligation d'appliquer les règles de bonne pratique de laboratoire.

### **III.1.2.2. Organigramme du personnel**

La direction du laboratoire doit disposer d'un organigramme du personnel, d'une politique des ressources humaines et de définitions de fonctions qui décrivent les qualifications et les responsabilités pour chaque catégorie de personnel.

### **III.1.2.3. Conservation des enregistrements du personnel**

La direction du laboratoire doit conserver des enregistrements concernant les compétences utiles, les diplômes, les qualifications professionnelles, la formation et l'expérience de chacun des membres du personnel.

D'autres enregistrements concernant la santé du personnel, tels que l'exposition aux risques professionnels et le statut des immunisations, doivent être conservés et accessibles aux personnes autorisées.

### **III.1.2.4. Responsabilités du directeur dans la gestion des ressources humaines**

Le laboratoire doit être dirigé par une ou plusieurs personnes ayant les fonctions et les compétences leur permettant de prendre la responsabilité des services proposés.

Les responsabilités du directeur du laboratoire ou des personnes déléguées doivent inclure les questions d'ordre professionnel, scientifique, consultatif, organisationnel, administratif et éducationnel. Ces questions doivent se rapporter aux services proposés par le laboratoire.

Il n'est pas nécessaire que le directeur du laboratoire assume personnellement toutes les responsabilités. Il reste cependant responsable du fonctionnement global et de la gestion du laboratoire dans le but d'assurer que les services proposés aux clients sont de qualité.

### **III.1.2.5. Qualification et habilitation**

Les ressources en personnel doivent être adéquates et suffisantes pour effectuer les travaux requis et remplir les autres fonctions du système de management de la qualité.

La direction du laboratoire doit autoriser le personnel habilité à effectuer des tâches particulières telles que l'aliquotage, l'analyse, l'utilisation de types particuliers (équipements, y compris l'utilisation du système informatique du laboratoire).

### **III.1.2.6. Formation continue**

Un programme de formation continue doit être disponible pour toutes les catégories de personnel.

Les employés doivent être formés pour éviter ou réduire les effets des incidents malencontreux.

La compétence de chaque membre du personnel pour remplir les tâches imparties doit être évaluée à l'issue de la formation puis périodiquement par la suite. Un recyclage et une réévaluation doivent être effectués si nécessaire.

Le personnel doit être sensibilisé à la mise en place du système de management de la qualité pour les prestations proposées.

### **III.1.3. Locaux et conditions environnementales**

#### **III.1.3.1. Aménagement**

Les locaux abritant le laboratoire doivent être conformes aux normes définies par la réglementation en vigueur. **Loi 2002-54 du 11 juin 2002, relative aux laboratoires d'analyses médicales**

L'accès au laboratoire doit être contrôlé.

L'aménagement du laboratoire doit être conçu pour permettre d'isoler les activités susceptibles d'entraîner une contamination du personnel et/ou de l'analyse et pour éviter toute pollution. Il est impératif de mettre en œuvre des procédures permettant d'éviter les croisements spatio-temporels de produits incompatibles dans le laboratoire (échantillons biologiques, consommables, déchets...).

Il doit exister des zones de stockage à différentes températures pour les matières premières, les réactifs et les consommables. La conservation des échantillons biologiques doit éviter tout risque de contamination.

Les produits toxiques ou potentiellement dangereux doivent être stockés à part dans des zones répondant aux normes de sécurité requise. **Règlement européen sur l'Enregistrement, l'Évaluation et l'Autorisation des Produits Chimiques 2006/1907/CE (REACH : Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals) entré en vigueur le 1er Juin 2007**

Des zones particulières pour le nettoyage du matériel contaminé ou polluant doivent exister dans la laverie du laboratoire.

### **III.1.3.2. Entretien**

Des instructions doivent préciser l'entretien des locaux (fréquence, produits de nettoyage, mode d'emploi). **Circulaire n°76/92 du 18/09/1992, relative à la gestion des déchets hospitaliers** Le nettoyage du matériel et le tri des déchets doivent se faire dans des conditions de sécurité pour le personnel et pour la qualité des analyses. **Circulaire n°76/92 du 18/09/1992**

### **III.1.4. Sécurité et élimination des déchets**

#### **III.1.4.1. Sécurité**

Tous les échantillons doivent être manipulés avec les précautions d'usage par l'utilisation d'équipements de protection appropriés Directive concernant la protection de la santé et de la sécurité des travailleurs (98/24/CE ; directive fille de la directive 89/391/CEE visant à promouvoir l'amélioration de la sécurité et de la santé des travailleurs sur le lieu de travail) Toutes les dispositions nécessaires doivent être prises pour respecter les obligations réglementaires contre les risques d'incendie et d'explosion

Les installations de gaz combustible doivent être conformes à la réglementation en vigueur et régulièrement vérifiées par une personne ou un organisme habilité à cet effet (réf.10).

Les produits inflammables, radioactifs ou combustibles doivent être conservés dans les conditions réglementaires. Avis des ministres de l'intérieur et du développement local et du commerce et de l'artisanat et de l'industrie et de l'énergie et des petites et moyennes entreprises relatif à la gestion de quelques produits chimiques dangereux, paru au jort n°65 du 16 août 2005

Les produits toxiques doivent être maintenus dans leur emballage d'origine avant leur utilisation. Quand ils entrent dans la composition de réactifs, l'emballage de ceux-ci doit porter clairement, selon les cas, les mentions « corrosif », « irritant » ou « toxique ». Règlement européen sur l'Enregistrement, l'Évaluation et l'Autorisation des Produits Chimiques **2006/1907/CE (REACH : Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals)** entré en vigueur le 1er Juin 2007.

### **III.1.4.2. Elimination des déchets**

L'élimination des déchets doit être conforme à la législation et à la réglementation en vigueur . Loi 2002-54 du 11 juin 2002

Elle doit être conduite de manière à ne pas compromettre la santé des personnels du laboratoire et du personnel chargé de la collecte des déchets et à ne pas polluer l'environnement.

Les déchets générés par les actes de prélèvement et les analyses doivent être séparés en déchets à risque et en déchets ordinaires.

Les déchets à risque comprennent 3 groupes :

- déchets potentiellement infectieux, déchets anatomiques, déchets piquants ou tranchants
- produits chimiques toxiques ;
- produits radioactifs.

Pour chaque groupe, une filière d'élimination doit être mise en place avec des modalités de conditionnement, de stockage, de transport et de traitement spécifiques et ce, conformément aux dispositions législatives et réglementaires en vigueur.

Les déchets ordinaires sont à conserver dans des conteneurs en vue de leur élimination par le circuit des ordures ménagères.

### **III.1.5. Matériel de laboratoire**

Un laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer du matériel adéquat et doit s'équiper de tout le matériel nécessaire en fonction des analyses. Le laboratoire doit disposer du matériel spécifique aux analyses d'urgence qu'il déclare effectuer. Le directeur du laboratoire doit tenir à jour une liste des analyses effectivement réalisées avec le matériel présent.

Les systèmes analytiques utilisés pour l'obtention des résultats doivent être choisis en fonction des performances souhaitées et des résultats des expertises réalisées indépendamment du constructeur ou du vendeur.

Le directeur du laboratoire doit s'assurer du respect des modalités d'installation, de fonctionnement et d'entretien préconisées dans la notice du fabricant des matériels et des

automates présents dans le laboratoire. Il doit en particulier vérifier que les versions des logiciels des automates possèdent des capacités suffisantes et sont compatibles avec les automates utilisés. Dans le cas d'automates permettant d'effectuer des analyses autres que celles prévues par le fabricant ou utilisant des réactifs non fournis par celui-ci, toute extension d'utilisation non validée par le fournisseur engage la responsabilité du directeur du laboratoire.

Les appareils doivent être périodiquement et efficacement inspectés, nettoyés, entretenus et vérifiés selon la procédure opératoire en vigueur. L'ensemble de ces opérations ainsi que les visites d'entretien et de réparation du constructeur ou de l'organisme de maintenance doivent être consignées par écrit dans un registre de maintenance affecté à chaque instrument.

Les notices d'utilisation et de maintenance d'appareils doivent être mises en permanence à la disposition du personnel utilisateur et respectées.

Le fonctionnement des appareils doit être vérifié selon la fréquence préconisée par le fabricant.

Des procédures de remplacement doivent être prévues en cas de dysfonctionnement d'un équipement : mise en œuvre d'autres techniques ou transmission des échantillons à un autre laboratoire.

### **Les matériels de laboratoires :**

Centrifugeuse réfrigérée GR 412

Etuve séchante/stérilisante Mermet

Hotte Microflow 120

Congélateur -80°C

Hotte Biocyt 150 Flufrance

Incubateur CO2 Forma Scientific

AGITATEUR MELANGEUR

(et accessoires de fixation)

AUTOCLAVE



BALANCE DE PRECISION

ANALYSEUR MULTIPARAMETRES

(pHMETRE / THERMOMETRE)

REFRIGERATEUR

SPECTROPHOTOMETRE UV / VISIBLE

### **1- Les centrifugeurs C/G4.22, CR/GR4.22 et CT/GT4.22 :**

Servent à séparer, grâce à la force centrifuge, des substances de densité variable.

Les modèles C/G4.22 sont du type ventilé, les modèles CR/GR4.22 sont réfrigérés et les CT/GT4.22 sont thermostatés. Dans les modèles ventilés C/G4.22, l'air de la cuve circule en permanence de façon à limiter l'élévation de température des échantillons.

Le système de réfrigération CR/GR4.22, permet de maintenir la température de l'échantillon à la température ambiante de la pièce ou au-dessous.

La thermostatisation CT/GT4.22, permet grâce au contrôle du froid et du chaud de maintenir la température aussi bien en dessous qu'au-dessus de la température ambiante avec une précision élevée.

### **2- Une étuve de laboratoire :**

Est un appareil de chauffage fonctionnant le plus souvent à la pression atmosphérique (parfois sous vide ou sous gaz neutre) et permettant d'effectuer divers traitements thermiques à température régulée. Les laboratoires d'analyse ou de recherche en sont souvent pourvus.

### **3-Les hottes à flux laminaires :**

Font partie des hottes de laboratoire. Elles stérilisent les produits chimiques manipulés par les laborantins. Elles évitent donc la contamination microbienne des échantillons. Ces hottes sont utilisées pour faire des tests de stérilité, des manipulations in-vitro... Il existe deux grandes catégories des hottes à flux laminaire : hotte à flux laminaire horizontale et hotte à flux laminaire verticale. Elles sont équipées d'une lampe UV-C, d'un filtre, d'une régulation automatique, etc. L'éclairage des hottes est assuré par des tubes fluorescents.

### **III.1.6. Achat et approvisionnement des produits consommables**

Les produits consommables nécessaires au fonctionnement des appareils doivent être conformes aux normes définies par les constructeurs et doivent être utilisés uniquement selon l'usage et les modalités prévus dans la notice.

Les réactifs préparés ou reconstitués au laboratoire doivent porter la date de leur préparation ou reconstitution ainsi que celle de leur péremption. Ces manipulations doivent faire l'objet de procédures et modes opératoires concernant la préparation et le contrôle des réactifs ainsi obtenus. Chaque fabrication d'un lot doit être consignée dans un document qui est archivé avec le résultat du contrôle correspondant. Le directeur du laboratoire doit pouvoir justifier que les résultats obtenus suite à l'utilisation des réactifs ainsi préparés sont de même qualité que ceux fournis par les réactifs de fabrication industrielle quand ils existent. Les réactifs d'origine industrielle doivent comporter, en outre, la date de leur réception au laboratoire. Les instructions précises sur leurs conditions de stockage doivent être strictement appliquées. Tout réactif périmé ne doit pas être utilisé aux fins d'analyse médicale pour les besoins des clients. Les réactifs présentant un caractère toxique et/ou potentiellement infectieux doivent être stockés dans des conditions particulières. Le personnel doit être informé de cette particularité et des mesures à prendre pour éviter tout risque et de la procédure à suivre en cas d'incident.

## **III.2. LES EXIGENCES TECHNIQUES**

### **III.2.1 - Phase pré-analytique :**

Série d'étapes commençant chronologiquement par la prescription des analyses par le clinicien, comprenant la demande d'analyse, la préparation du client, le prélèvement du spécimen, l'acheminement jusqu'au laboratoire et au sein du laboratoire et finissant au début de la procédure analytique.

### **III.2.2 - Phase analytique :**

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

### **III.2.3 - Phase post-analytique :**

Toutes les étapes qui suivent l'analyse et comprennent la revue systématique, la mise en forme et l'interprétation, la validation, le compte rendu et la transmission des résultats et le stockage des échantillons biologiques examinés.

### **III.2.4.1- Validation des résultats**

Les résultats sont soumis à une double validation.

La validation technique doit être effectuée par le personnel d'exécution sous la responsabilité du directeur du laboratoire, après avoir vérifié les indicateurs de bon fonctionnement de l'équipement biotechnique et pris connaissance des résultats du contrôle de qualité interne, selon des instructions précises écrites.

La validation biologique, pour s'assurer de la compatibilité des résultats de l'ensemble des analyses pratiquées conformément aux informations cliniques disponibles concernant le client, est de la seule compétence du directeur du laboratoire.

Le stockage du spécimen et des autres échantillons de laboratoire doit être organisé conformément à une politique approuvée.

### **III.2.4.2 - Expression des résultats et comptes rendus d'analyses :**

L'expression des résultats doit être précise, univoque et consignée en unités SI ou en unités traçables par rapport aux unités SI si nécessaire.

Les valeurs de référence doivent être indiquées. La méthode d'analyse et/ou les réactifs utilisé(e) (s) doivent être mentionné(e)(s) chaque fois qu'ils peuvent influencer sur l'expression du résultat.

### **III.2.4.3 - Conservation des échantillons**

L'élimination en toute sécurité des échantillons devenus inutiles doit être réalisée conformément aux instructions ou aux recommandations relatives à la gestion des déchets.

## **III.3. LE SYSTEME DE MANAGEMENT DE LA QUALITE**

### **III.3.1. Organisation du système de management de la qualité**

Tout laboratoire réalisant des analyses de biologie médicale doit disposer d'un système de management de la qualité fondé sur des procédures, des modes opératoires écrits en rapport principalement avec : la formation et la qualification du personnel, la gestion des déchets, l'achat et l'approvisionnement, l'exécution des analyses, la maîtrise documentaire, le traitement des réclamations. **Norme internationale ISO 9000, 2005 : Système de Management de la Qualité : principes essentiels et vocabulaires**

Un système de management de la qualité doit être permanent et doit conserver une trace des contrôles effectués et de l'efficacité des actions correctives. Sans cette trace, il est difficile, et parfois impossible, de retrouver une erreur et/ou d'en analyser les causes pour en éviter la répétition.

### **III.4. STOCKAGE ET ARCHIVAGE**

Les archives du laboratoire doivent être entreposées dans un local permettant la conservation des documents sans altération et ce, sous la responsabilité d'une personne désignée à cet effet par le responsable du laboratoire. Toutes les mesures propres à assurer la confidentialité des résultats nominatifs doivent être prises.

La procédure de stockage des documents conservés sous forme informatique doit être établie pour éviter toute perte accidentelle des informations. Ces dernières doivent être dupliquées sur 2 supports distincts (l'un servant à la consultation et l'autre étant gardé en réserve).

Les archives doivent comporter les documents suivants :

- le relevé chronologique des analyses pratiquées par le laboratoire, précisant la date d'exécution de l'analyse, son numéro d'ordre, les nom et prénom du client, pour les analyses de biologie médicale humaine, l'identification et la provenance du ou des animaux malades, pour les analyses vétérinaires, les nom et prénom du médecin prescripteur, la nature et les résultats des analyses exécutées. Ces références doivent être conservées, dans le respect de la confidentialité, pendant une période minimale de 5 ans ;
- les résultats des analyses exécutées dans le cadre du contrôle de qualité national. Ces résultats sont à conserver pendant 5 ans ;
- les résultats du contrôle de qualité interne, à conserver pour une période minimale d'un an.
- un exemplaire des procédures, modes opératoires et instructions, comportant la date de leur mise en œuvre, à conserver pendant la durée de leur utilisation et au moins 2 ans après la fin de leur utilisation.
- les documents relatifs au matériel, à conserver pendant la durée de son utilisation
- les documents relatifs aux réactifs et au matériel consommable, à conserver pendant la durée d'utilisation.

## **Partie expérimentale :**

Notre étude a été réalisée à la wilaya de MEDEA ET M'SILA en collaboration avec 10 cliniques vétérinaires dans les deux Wilaya.

Matériel et méthode :

### **I. Matériel :**

#### **Questionnaire :**

A l'aide d'un logiciel informatique Le Sphinx -V5

### **II. Méthodologie d'élaboration d'un questionnaire :**

Le questionnaire est, de tous les outils d'investigation, le plus connu et le plus fréquemment utilisé. Cette méthode dite « par questionnaire » présente de nombreux avantages et elle est pratiquement la seule qui soit adaptée aux enquêtes qualitatives. Elle présente des caractéristiques irremplaçables telles que :

- Le caractère systématique et standardisé des observations
- La simplicité, la rapidité et le faible coût des opérations, comparativement d'autres méthodes
- La possibilité d'étudier des populations importantes ou de gros échantillons et de traiter les données obtenues statistiquement.

L'élaboration et la mise au point d'un questionnaire sont des phases longues et complexes où il faut résoudre plusieurs types de problèmes :

- **Quelles questions poser ?**
- **Sous quelles formes ?**
- **A qui?**
- **Quand?**
- **Comment?**

#### **I.1 Les étapes pour élaborer un questionnaire :**

**01- Objectif enquête.**

**02- Structure questionnaire.**

**03- Rédiger questions.**

**04- Modalités administration.**

**05- Test questionnaire.**

**06- Administration.**

**07- Saisie réponses.**

**08- Analyse résultat.**

**NB:**

Avant de rédiger un questionnaire, vous devez devenir un spécialiste du problème à analyser. Un bon questionnaire n'a pas pour finalité de connaître un problème, mais d'en quantifier les composants.

- **Objectif enquête:**

Définir précisément le champ de l'étude. Qu'est-ce que l'on souhaite étudier, qu'est-ce que l'on souhaite savoir ?

- **Structure questionnaire:**

Définir la structure générale du questionnaire avec ses parties et ses sous parties Une enquête comporte souvent quatre grands types de questions relatives aux comportements, aux opinions, aux motifs et à l'identité.

Posez les questions dans cet ordre, car Il est plus simple de parler de ce que l'on fait (comportements) que de ce qu'on en pense (opinions). Il est ensuite possible, d'aborder les raisons des choix (le pourquoi) plus personnel.

Cette organisation permet de passer progressivement à des questions de plus en plus personnelles.

- **Rédiger questions:**

Rédiger de façon rigoureuse chaque question.

Définir précisément ce que la question cherche à savoir, puis rédiger la question en adéquation avec son objectif,

Utiliser des termes simples et sans ambiguïtés ou à double sens,

Rédiger des questions neutres qui n'induisent pas les réponses,

Proposer des réponses pertinentes

- **Modalités administration:**

Définir les modalités d'administration du questionnaire

- Définir le profil des personnes à interroger et concentrer l'administration sur cette cible. Utiliser la méthode des quotas

- Commencer par une ou des questions filtres destinées à éliminer les personnes non concernées par le questionnaire.

- le nombre de questionnaires à administrer doit être suffisant pour obtenir des réponses représentatives du panel et pour atténuer le poids des réponses atypiques.
- Le mode d'administration : face à face ; téléphone ; voie postale ; Internet ; auto-administration.

- **La méthode des quotas:**

Elle consiste à s'assurer que l'échantillon interrogé, est représentatif de la population à étudier.

- **Test questionnaire:**

Tester le questionnaire sur un échantillon

Tester le questionnaire sur un petit effectif représentatif du panel afin de contrôler l'ordre des questions leur compréhension puis de corriger éventuellement le questionnaire en fonction des problèmes rencontrés

- **Administration :**

Administrer le questionnaire

- Respecter les règles définies dans l'étape 4 (Choix du panel).
- Evitez l'administration auprès des amis ou camarades de classe qui permet de gagner du temps mais biaise les résultats.

- **Saisie réponses:**

Saisir les réponses sur une application

Respecter de nouveau la règle des quotas

Complétez ou éliminez les questionnaires de façon aléatoire sans éliminer questionnaires qui dérangent ou ne satisfont pas le client.

- **Analyse résultat:**

Analyser les résultats

- Ne vous contentez pas des tris à plat
- faites des tirs croisés qui permettent une analyse plus fine.

### **III. Les logiciels informatiques:**

#### **II.1 Créa\_Questionnaire:**

permet une transcription et une normalisation de ce premier travail sous Excel, et permet d'utiliser les fonctionnalités spécialement étudiées pour faciliter la saisie de données. Nous allons dans un premier temps décrire l'apport du logiciel

Créa\_Questionnaire, en parlant de ses macros aidant à la gestion de la saisie, ainsi qu'à la mise

en forme automatique d'un questionnaire. Puis dans ce second temps, nous allons décrire une série de fonctionnalités Excel qui permettent d'aller plus loin et de changer ces méthodes de travail. Enfin, nous nous pencherons sur les apports du logiciel pour avoir une vue d'ensemble de son utilité. Puis, pour les porter à la connaissance d'utilisateurs avertis, nous donnerons des éléments qui concernent la conception du logiciel, en vu d'ajouter des fonctionnalités et de participer à son développement...

Cet article a donc pour objectif de promouvoir une méthode de création de questionnaires sous Excel® et d'exposer des idées et macros rassemblées dans une application Excel® librement utilisable.

## **II. Le Sphinx -V5:( logiciel qu'on a choisie pour notre etude)**

### **Le logiciel de référence pour tous les projets d'études.**

Sphinx est un outil d'enquêtes intuitif et performant, qui apporte une plus-value technique et méthodologique de la construction de vos questionnaires à l'analyse de vos données. Le logiciel phare de la gamme Sphinx, vous accompagne à chaque étape de vos projets, des plus simples aux plus sophistiqués.

Combinant l'utilisation de technologies innovantes comme le Responsive Design pour une collecte sur tous les supports à des analyses mettant en avant les éléments significatifs, la version Sphinx vous offre de grandes opportunités pour appréhender et comprendre vos clients, mais aussi pour faciliter les échanges avec les interviewés. Sphinx fait évoluer vos études dans un monde toujours plus connecté !



III. modèle de questionnaire réaliser par logiciel informatique SPHINX :

## QUESTIONNAIRE SUR LES ANALYSES BIOCHIMIQUES RURALE

2017/2018 - Université Bliida-1 SAAD DAHLEB, INSTITUT DES SC

-Projet de fin d'étude en vue de l'obtention de diplôme de docteur vétérinaire

-Thème : enquête sur l'usage de la biochimie clinique en milieu rurale vétérinaire

-Etudiants : BOUNIF MOHAMED AYMEN et BOULARIAH YAGOUB

**1. 1. Votre avis par rapport à cet outil en apport au diagnostic**

1. Contraignant  2. Sans intérêt  3. Trop couteux

*Vous pouvez cocher plusieurs cases.*

**2. 2. Est-ce qu'il vous arrive d'utiliser des analyses biochimiques en pratique courante**

1. En cas d'insuffisance hépatique  
 2. En cas d'insuffisance rénale  
 3. Maladies carencielles  
 4. Baisse de la production  
 5. Pathologie infectieuses (bactérienne, parasitaire, virale)

*Vous pouvez cocher plusieurs cases.*

**3. 3. Quels sont les difficultés qui empêchent son usage :**

1. Techniques (disponibilité, efficacité)  
 2. Humaines (manque de maîtrise)  
 3. Financier

*Vous pouvez cocher plusieurs cases.*

**4. 4. Est-ce que vous faite usage de la biochimie en cas**

1. D'urgence  2. Systématiquement  
 3. Prévention  4. Outil complémentaire  
 5. Suivi thérapeutique

*Vous pouvez cocher plusieurs cases.*

**5. 5. Quel sont les paramètres biochimiques que vous utilisés**

1. Exploration hépatique  
 2. Fonction rénale  
 3. Maladie métabolique  
 4. Maladie carencielles  
 5. Baisse des performances zootechniques  
 6. Bactérienne (antibiogramme)  
 7. Virale  
 8. Parasitaires  
 9. Intoxication (intoxination)

*Vous pouvez cocher plusieurs cases.*

**6. 6. Avez-vous entamé une étude complémentaire par rapport à votre formation de base concernant les analyses biochimiques**

1. OUI  2. NON

**7. 7. Est-ce que vous utilisez des tests rapides**

1. Les bandelettes réactives  2. Tests chimiques  
 3. automates de biochimies

*Vous pouvez cocher plusieurs cases.*

**8. 8. est ce que vous sollicitez un laboratoire à prédestination humaine ou vétérinaire**

1. OUI  2. NON

#### IV. RESULTATS :

##### RESULTATS DES QUESTIONNAIRE SUR LES ANALYSES BIOCHIMIQUES RURAL:

Huit tables ont été créés dans le logiciel informatique Le **Sphinx -V5**. Les différentes tables sont Présentées dans les tableaux III, IV, V, VI, VII, VIII , IX, X.

##### 8 observations :

**Tableau III : l'avis concernant l'apport de la biochimie pour le diagnostic**

<b>Votre avis concernant l'apport de la biochimie pour le diagnostic</b>		
	<b>Nb</b>	<b>% obs.</b>
Contraignant	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
Sans intérêt	<b>4</b>	<b>57,1%</b>
Trop couteux	<b>3</b>	<b>42,9%</b>
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>100,0%</b>

**Tableau IV: les analyses biochimique en pratique courante**

<b>Est-ce qu'il vous arrive d'utiliser des analyses biochimiques en pratique courante</b>		
	<b>Nb</b>	<b>% obs.</b>
En cas d'insuffisance hépatique	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
En cas d'insuffisance rénale	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
Maladies carencielles	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
Baisse de la production	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
Pathologie infectieuses (bactérienne, parasitaire, virale)	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
jamais	<b>7</b>	<b>100,0%</b>
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>100,0%</b>

**Tableau V: les difficultés qui empêchent l'usage de la biochimie**

<b>Quels sont les difficultés qui empêchent son usage :</b>		
	<b>Nb</b>	<b>% obs.</b>
Techniques (disponibilité, efficacité)	<b>5</b>	<b>71,4%</b>
Humaines (manque de maitrise)	<b>2</b>	<b>28,6%</b>
Financier	<b>2</b>	<b>28,6%</b>
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>100,0%</b>

**Tableau VI: les cas de l'usage de la biochimie**

<b>Est-ce que vous faite usage de la biochimie en cas</b>		
	<b>Nb</b>	<b>% obs.</b>
D'urgence	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
Systématiquement	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
Prévention	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
Outil complémentaire	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
Suivi thérapeutique	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
jamais	<b>7</b>	<b>100,0%</b>
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>100,0%</b>

**Tableau VII: les paramètres biochimiques utilisés**

<b>Quel sont les paramètres biochimiques que vous utilisés</b>		
	<b>Nb</b>	<b>% obs.</b>
Fonction rénale	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
Maladie métabolique	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
Maladie carentielles	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
Baisse des performances zootechniques	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
Bactérienne (antibiogramme)	<b>0</b>	<b>0,0%</b>

Virale	0	0,0%
Parasitaires	0	0,0%
Intoxication (intoxination)	0	0,0%
rien	7	100,0%
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>100,0%</b>

**Tableau VIII: L'étude complémentaire par rapport la formation**

<b>Avez-vous entamé une étude complémentaire par rapport à votre formation de base concernant les analyses biochimiques</b>		
	<b>Nb</b>	<b>% cit.</b>
OUI	0	0,0%
NON	7	100,0%
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>100,0%</b>

**Tableau IX: L'usage des tests rapides**

<b>Est-ce que vous utilisez des tests rapides</b>		
	<b>Nb</b>	<b>% obs.</b>
Les bandelettes réactives	0	0,0%
Tests chimiques	0	0,0%
automates de biochimies	0	0,0%
rien	7	100,0%
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>100,0%</b>

**Tableau X: La demande au laboratoire à prédestination humaine ou vétérinaire**

**est ce que vous sollicitez un laboratoire à prédestination humaine ou vétérinaire**

	<b>Nb</b>	<b>% cit.</b>
OUI	<b>0</b>	<b>0,0%</b>
NON	<b>7</b>	<b>100,0%</b>
<b>Total</b>	<b>7</b>	<b>100,0%</b>

## V. Interprétation des résultats :

- **Votre avis concernant l'apport de la biochimie pour le diagnostic**

Réponse : Sans intérêt

Les vétérinaires ne sont pas intéressés par la biochimie a cause de la confiance en soi comme la plupart ont dit ou comme les restes ont dit que les propriétaires refusent la biochimie

- **Est-ce qu'il vous arrive d'utiliser des analyses biochimiques en pratique courante**

Réponse : Jamais

La biologie médicale est une discipline essentielle de la santé. Présente à toutes les étapes de la chaîne de soins, du diagnostic au suivi des pathologies et des traitements, en passant par la prévention et le dépistage, son rôle est primordial. Son évolution constante provient des formidables progrès scientifiques réalisés au cours des dernières années, améliorant considérablement les tests de diagnostic. Le biologiste se place en partenaire du médecin, l'orientant et le guidant dans sa pratique quotidienne

Mais en Algérie. Ils sont pas intéressés, le matériel n'est pas disponible, les laboratoires prennent beaucoup du temp pour renvoyer les résultats et les propriétaires refusent l'utilisation des analyses

- **Quels sont les difficultés qui empêchent son usage**

Réponse : Techniques (disponibilité, efficacité)

- **Est-ce que vous faite usage de la biochimie en cas**

Réponse : Jamais

- **Quel sont les paramètres biochimiques que vous utilisés**

Réponse : Rien

La biologie est, aujourd'hui, l'œil du décisionnaire en matière de santé. Sur la base d'un résultat, le laboratoire délivre l'argument sur lequel le médecin objective son geste.

Les tests de laboratoire constituent une aide à la meilleure décision sanitaire et jouent ainsi un rôle central dans la gestion des soins.

Ils peuvent également être utilisés dans le contexte de la prévention, domaine doté d'un fort potentiel de réduction de coûts de santé à long terme et de qualité de vie des patients.

Les analyses de biologie permettent de déterminer les risques avant qu'une pathologie ne soit installée, ou de retarder, voire d'éviter, l'évolution vers des complications graves

L'indisponibilité du matériel et le manque d'efficacité (soit les résultats sont faux soit la lecture des résultats est fausse) sont l'une des difficultés qui empêchent l'usage de la biochimie donc les vétérinaires l'évitent.

- **Avez-vous entamé une étude complémentaire par rapport à votre formation de base concernant les analyses biochimiques**

Réponse : Non

La plupart des vétérinaires qui ont répondues par « non » ne sont même pas intéressées et le reste ont prétends qu'ils y'a un manque des centres de formation ou la dernière est couteuse

- **Est-ce que vous utilisez des tests rapides**

Réponse : Rien

La réponse est rien car ils n'utilisent pas les tests du tout

- **Est-ce que vous sollicitez un laboratoire à prédestination humaine ou vétérinaire**

Réponse : Non

Le laboratoire est ainsi devenu une référence indispensable à tout acte de santé et joue un rôle central et majeur, tant au niveau individuel que collectif, permettant ainsi d'améliorer la qualité de la prise en charge du patient.

L'utilisation de données objectives, fournies par le laboratoire de biologie, est un élément incontournable de l'exercice du médecin et contribue à la prise de meilleures décisions, conduisant à une meilleure gestion des soins.

Mais dans notre paye. Aucun des vétérinaires sollicite un laboratoire parce qu'ils ne maitrisent pas les tests ou les propriétaires refusent l'utilisation de ce dernier (le cout, la longue durée d'attente des résultats)

## **VI. Conclusion :**

La biochimie clinique est le domaine de la biologie médicale qui concerne l'analyse des molécules contenues dans les liquides corporels (Sang, urines,...) et l'interprétation des résultats de ces analyses par un biologiste médical dans le but de caractériser l'origine physiopathologique d'une maladie.

Les prélèvements pour des analyses complémentaires sont de plus en plus réalisés par les praticiens vétérinaires, ces analyses présentent un intérêt diagnostique parce qu'elles permettent d'identifier diverses pathologies et d'apprécier la gravité des lésions.

Toutefois, bon nombre de praticiens sont confrontés à d'énormes difficultés à réaliser convenablement les analyses de laboratoire dû à un manque de personnel qualifié en général.

Compte tenu du grand rôle que joue les animaux, il s'avère nécessaire de mettre un accent sur les renseignements fournis par les analyses de laboratoire afin d'aboutir à un bon diagnostic.



## VII. Références bibliographiques

1. ACKER P, MAYDAT L, TRAPET P., 1987. Quelques constantes biochimiques actuelles de l'Africain congolais normal. *Bull Soc Path* 1; 1:460-7

2. BLOOD DC; GAY CC; HINCHCLIFF KW et RADOSTITS OM., 2000. 9<sup>ème</sup> éd-philadelphie: W.B. Saunders Company. -1877p. Annexes . In: *A Textbook of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs and Goats*

Philippe de La Cotardière, *Histoire des sciences de l'antiquité à nos jours*, Tallandier, 2004

3. BOUISSET B., 2003. Examen d'urine au chevet du bovin. *Le Point Vétérinaire*, 34 (numéro spécial) : examen paraclinique chez les bovins : 16-17

4. BOUM B, TANTCHOU J., 1978. Normes biochimiques du camerounais dans la région de Yaoundé. *Rev sciences et techniques ; II, 1* :103-7

- Lubert Stryer, Jeremy Mark Berg, John L. Tymoczko (trad. Serge Weinman), *Biochimie*, éditions Flammarion, coll. « Médecine-Sciences », 2003, 5<sup>e</sup> éd

5. BRETAUDIERE JP, BURET J, FABRE R, et al., 1978. Les variations biologiques des examens de laboratoire. *Société française de biologie clinique. Commission des valeurs de référence .Ann Bio Clin ; 37* :229-39.

6. BUSH B.M., 1991. *Interpretation of laboratory results for small animal clinicians*. London : Blackwell Scientific Publications : 411-462

7. CASSELEUX G. D. E., 2007. Détermination des valeurs usuelles biochimiques et hématologiques du chiot âgé de zéro à huit semaines. Thèse : Méd. Vét. : Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort

8. CHUZEL T., 2003. Le frottis sanguin : ses apports et ses limites. *Le Point Vétérinaire*, 34 (235) : 28-36 52

9. **CONSTABLE PD ; SMITH GW et MORIN DE., 2001. Ability of hematologic and serum biochemical variables to differentiate Gram-negative and Gram-positive mastitis in dairy cow. Journal of Veterinary Internal Medicine, 15(4): 394-400**
10. **DERY A ; FRANCOZ D et LANEVSCHI A, 2003. Les examens hématologiques en pratique bovine. Le Point Vétérinaire, les examens paracliniques chez les bovins, 34, 42-48**
11. **DONIOL-VALCROZE J., 2001. Histoire de la contention et de l'anesthésie vétérinaire. Thèse: Méd. Vét.: Alfort.**
12. **ETTINGER S.J. et FELDMAN E.C., 1995. Textbook of veterinary internal medicine. 4<sup>ème</sup> éd. – Montreal: W.B. Saunders. -1706-1719.**
13. **EVAN AG., 1996. Alteration in skin (222-226). In: Bradford P. Smith editor, Large Animal Internal Medicine.-2<sup>ème</sup> edi.- St Louis: Mosby. (Etats Unis).-2040p.**
14. **GAUDILLIERE J P, 2004. Biochimistes français entre légitimité médicale et légitimité biologique,1930-1960 Article extraire de C.DEBRU ,J GAYON et J F PICARD. Archive pour l'histoire de la recherche, paris CNRS 2004.**
15. **GEOLLOT S; MAURIAT L et VANHOSBEKE O., 2005. Le geste technique en médecine des bovins, ovins et caprins : aspects théoriques et pratiques en vue de la réalisation d'un DVD Rom. Thèse : Méd. Vét.: Alfort; 9. 53**
16. **HUGHES X.Y., 1992. Polyuria and polydipsia. Comp. Cont. Educ. Vet. Pract, 14: 1161-1175.**
17. **LORENZ M.D. et CORNELIUS L.M., 1987. Small animal medical diagnosis.- Philadelphie: Lippincott Co.- 321-355.**
18. **MCCAW D.L.; FLEMING E.J. et MIKICIUK M.G., 1989. Selecting the right diagnostic tests for renal disease. Vet. Med.: 266-272.**
19. **MORRIS DD., 2002a. Alteration in the Erythron (473 479). In: Smith BP editor, Large Animal Internal Medicine.-3<sup>ème</sup> éd.-Saint Louis: Mosby (Etats Unis)**

20. MORRIS DD., 2002b. Alteration in the Leucogram (480-487). In: Smith BP editor, Large Animal Internal Medicine.-3<sup>ème</sup> éd.-Saint Louis: Mosby (Etats Unis)
21. MORRIS DD., 2002c. Alteration in plasma fibrinogen, (496-497). In: Smith BP editor, Large Animal Internal Medicine.-3<sup>ème</sup> éd., Saint Louis: Mosby, (Etats-Unis)
22. MORRIS DD., 2002d. Clinical chemistry tests (480-487). In: Smith BP editor, Large Animal Internal Medicine.-3<sup>ème</sup> éd. -Saint Louis: Mosby. (Etats-Unis)
23. NDOUR A., 1999. Bilan d'activités du laboratoire d'analyses médicales du centre de santé de Rufisque. Thèse : Pharm.: UCAD ; 66
24. ORBIO, 2008. Cytobactériologie urinaire. [En ligne]. Accès Internet : [http://www.orbio.fr/catalogue/view\\_doc.php?id=83](http://www.orbio.fr/catalogue/view_doc.php?id=83) (page consultée le 22/02/2009)
25. OSBORNE C.A. et STEVENS J.B., 1981. Handbook of canine & feline urinalysis.-Saint-Louis: Ralston Purina Co.-148p. 54
26. ROSENBERGER G., 1979. Examen clinique des bovins (traduction de la seconde édition allemande).-Maisons Alfort : Editions du Point vétérinaire.- 526 p.
27. SAKANDE J, COULIBALY JL, NJIKEUTCHI F N, et al., 2004 Etablissement des valeurs de référence de 15 constituants biochimiques sanguins chez l'adulte burkinabé à Ouagadougou (Burkina Faso).Ann Bio Clin ;2,229-34
28. SKOOG A ; HOLLER F J ; NIEMEN T A., 1998. Principles of instrumental analysis, traitement et révision scientifique de la 5<sup>ème</sup> édition américaine par Claudine BUESS-HERMAN et Freddy DUMONT
29. SMITH BP., 1996. Alteration in Alimentary and Hepatic Functiun (123-131). In: SMITH BP, Large Animal Internal Medicine.-2<sup>ème</sup> éd. - Saint Louis: Mosby.-2040 p.
30. SZAPIRO N., 2007. Magazine 30 Millions d'Amis, Article Santé, en collaboration avec Philippe de Waily ; interpréter une prise de sang chez le chien [En ligne]. Accès Internet :

<http://www.teleanimaux.com/articles,lecture,interpreter-une-prise-de-sang-chez-le-chien:60.html>(page consultée le 07/01/2009)

31. TINE F, 2008. Evaluation de la demande et du coût des analyses complémentaires dans les cliniques vétérinaires privées de la région de Dakar. Thèse : Méd. Vét. : Dakar ; 26.

32. Université de Montréal, 2008. Faculté de médecine vétérinaire, Service de Diagnostic:Urologie. [En ligne]. Accès Internet :

[http://www.medvet.umontreal.ca/ServiceDiagnostic/materiel\\_pedagogique/urologie/uro\\_Chimie-html-33k-](http://www.medvet.umontreal.ca/ServiceDiagnostic/materiel_pedagogique/urologie/uro_Chimie-html-33k-)(page consultée le 13/01/2008)

33. VANDERPUTTE S., 2003. Tests de terrain en pratique bovine. *Le Point Vétérinaire*, 34 (numéro spécial) : examen para clinique chez les bovins : 10-14

34. VINCENT-VIRY M., HENNY J., CLERC M., SIEST G. Discussion de quelques "limites de référence" de population européennes et africaines (Conclusion pratiques. Etude coopération internationale). *Médecine d'Afrique noire* ; 34 (5) :459-465

35. VINCENT-VIRY M., HENNY J., CLERC M., SIEST G., 1986 Les « valeurs de référence » sont-elles transférables ? (Résultats d'une étude coopérative internationale). *Médecine d'Afrique noire* ; 33,(5) :419-428

36. WILLARD M.D.; TVEDTEN H. et TURNWALD G.H., 1989. *Small animal clinical diagnosis by laboratory methods*. - Montréal ; W.B. Saunders C.121-153.

37. YAPO A.E, ASSAYIM J., AKA B., et al., 1989 Les valeurs de référence de 21 constituants biochimiques sanguins de l'ivoirien adulte présumé sain. *Pharm. Afr* ; 44 : 13-24

38. Peter N. Campbell et Anthony D. Smith (trad. de l'anglais), *Biochimie illustrée* [« Biochemistry illustrated », éditions Maloine, coll. « Sciences fondamentales », 2002, 4<sup>e</sup> éd

39. (<https://fr.wikipedia.org/wiki/Biochimie>)

**40. ([https://fr.wikipedia.org/wiki/Respiration\\_cellulaire](https://fr.wikipedia.org/wiki/Respiration_cellulaire))**

**41. (Consulté le 3 juillet 2018. URL: <http://www.universalis.fr/encyclopedie/biochimie/>)**

**42. (<https://biochimie.umontreal.ca/departement/>)**

Les références tiennent compte d'un ordre hiérarchique des textes réglementaires (loi, décret, arrêté, circulaire), suivi des normes internationales.

1. Loi 66-27 du 30 avril 1966, portant promulgation du code de travail.
2. Loi 92-71 du 27 juillet 1992, relative aux maladies transmissibles.
3. Loi 96-41 du 10 juin 1996, relative aux déchets et au contrôle de leur gestion et de leur élimination.
4. Loi 96-62 du 15 juillet 1996, portant modification de certaines dispositions du code de travail.
5. Loi 2002-54 du 11 juin 2002, relative aux laboratoires d'analyses médicales.
6. Décret n°2000-2339 du 10 octobre 2000, fixant la liste des déchets dangereux
7. Décret n°2004-1876 du 11 août 2004, relatif à la conformité des locaux et à l'attestation de prévention.
8. Décret n°2008-2745 du 28 juillet 2008, fixant les conditions et modalités de gestion des déchets des activités sanitaires
9. Arrêté du 26 novembre 1999 paru au journal officiel français, relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale, modifié par arrêté du 26 avril 2002
10. Arrêté du ministre de l'intérieur et du développement local du 17 août 2004, portant approbation du cahier des charges relatif à la détermination des conditions générales de conformité des locaux.

11. Arrêté du ministre de la santé publique du 22 janvier 2010, fixant les modalités du contrôle de qualité national des analyses médicales humaines
12. Avis des ministres de l'intérieur et du développement local et du commerce et de l'artisanat et de l'industrie et de l'énergie et des petites et moyennes entreprises relatif à la gestion de quelques produits chimiques dangereux, paru au jort n°65 du 16 août 2005.
13. Circulaire n°76/92 du 18/09/1992, relative à la gestion des déchets hospitaliers
14. Circulaire n°1/2006 du 02/01/2006 : mise en place d'un système de management de la qualité.
15. Circulaire n°23/2001 du 19/03/2001, relative à la mise en place d'un système de réactovigilance
16. Norme internationale ISO 9000, 2005 : Système de Management de la Qualité : principes essentiels et vocabulaires
17. Règlement européen sur l'Enregistrement, l'Évaluation et l'Autorisation des Produits Chimiques 2006/1907/CE (REACH: Registration, Evaluation and Authorisation of Chemicals) entré en vigueur le 1er Juin 2007
18. Directive concernant la protection de la santé et de la sécurité des travailleurs (98/24/CE ; directive fille de la directive 89/391/CEE visant à promouvoir l'amélioration de la sécurité et de la santé des travailleurs sur le lieu de travail)