

République algérienne démocratique et populaire.
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique.
Université Saad Dahleb, Blida.
Faculté des sciences de la nature et de la vie.
Département de biologie et physiologie cellulaire.



Mémoire de projet du fin d'étude.
En vue de l'obtention du diplôme de master II.
Option : biochimie.

Thème :

**Bilan phosphocalcique chez les patients atteints
d'insuffisance rénale chronique.**

Présenté par :

soutenue le : 23/09/2020

Boutouta Ibtissem.

Gotit Selma.

Meziane Marwa.

Devant le jury composé de :

Mme Saidi F.	Professeur	UB1	Présidente
Mme Sadi N.	MCB	UB1	Examinatrice
Mme Moud M.	MAA	CHU-FRANTZ FANON	Promotrice
Mme Hamzi W.	MAA	UB1	Co-promotrice

Année universitaire 2019-2020

Remerciement

Tout d'abord, nous remercions Dieu le tout puissant qui nous a donné le courage, la volonté et la santé afin d'accomplir notre travail.

Nous commençons par remercier nos rapporteurs :

Dr. Moud M ; Nous vous remercions profondément pour vos encouragements continue et aussi d'être toujours là pour nous écouter, nous aider et nous guider à retrouver le bon chemin par vos sagesse et vos précieux conseils.

Un grand merci également à Dr. Hamzi W, pour ses efforts fournis, ses conseils prodigués, sa patience et sa persévérance dans le suivi de ce mémoire, qui n'aurait pas vu le jour sans ses encouragements.

Nous remercions tous les membres de notre jury de mémoire :

Pr. Saïdi F pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury.

Dr. Sadi N, pour avoir bien voulu examiner ce travail et pour ces précieuses orientations pendant la réalisation de ce travail.

Un grand merci à l'équipe du laboratoire de biochimie dans le service de transplantation des organes et des tissus du CHU de Blida hôpital Frantz Fanon.

En fin, nous ne pouvons achever ce mémoire sans exprimer notre gratitude à tous les professeurs de faculté S.N.V .Université de BLIDA1 pour leur dévouement et leur assistance tout au long de nos études universitaires.

Un énorme merci à tous ceux qui ont rendu service et qui ont contribué de près ou de loin pour accomplir ce travail.

Merci

Dédicace

Merci Allah (le bon dieu) de m'avoir donné la capacité d'écrire et de réfléchir, et la force de la patience d'aller jusqu'au bout de rêve et de bonheur.

Je dédie mon travail à mes chers respectueux et magnifique parents qui m'ont soutenu tout long de ma vie, ma mère Leila qui est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours Pour mener à bien mes études.

A mon père Nouredine, mes sœurs Nadia, Faiza, Amina, Chahrazed, Zoulikha et Hadjira, mon frère Mohamed et son épouse Ibtissem. Ce travail est le fruit de tes sacrifices que vous avez Consentis pour mon éducation et ma formation. Que dieu les gardes et les protèges.

A mes beaux frères Rachid, Raouf, Rachid, Belkacem, Mohamed et Mostapha en particulier pour son aide et son temps. A tous les membres de la famille sans exception pour leur soutien morale.

A mon trinôme Ibtissem et Marwa et ses familles. A tous mes amies (Amel, Hayat et Nadjat et Siham) en particulier a ma très chère amie et sœur khaoula qui n'a pas cessé de m'encourager, me conseillée me soutenir tout au long de période de notre amitié. Que dieu la protège et l'offrir la chance et le bonheur.

A ma promotrice et ma Copromotrice pour leur temps et l'aide, leur patient et leur disponibilité.

A toute la promotion de biochimie 2019-2020.

Tous ceux qui m'aiment et croient en moi.

Toutes les personnes atteintes de l'insuffisance rénale, Puisse Dieu vous garder très longtemps en bonne santé.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infallible,

Merci d'être toujours là pour moi.

Selma.

DÉDICACE

Je dédie ce mémoire

A Allah

Le tout puissant le très miséricordieux, qui m'a inspiré, qui m'a guidé sur le droit chemin, je vous dois ce que je suis devenue, soumissions, louanges et remerciements, pour votre clémence et miséricorde.

A mes très chère parents Fatma Zohra et Yahia

Aucune dédicace, aucun mot ne saurait exprimer tout le respect, Aujourd'hui je crois avoir réalisé un de vos rêves toutes l'affection et tout l'amour que je vous porte. Merci de m'avoir soutenu tant moralement que matériellement pour que je puisse atteindre mon but.

Que ce travail, qui représente le couronnement de vos sacrifices généreusement consentis, De vos encouragements incessants et de votre patience, soit de mon immense gratitude et de mon éternelle reconnaissance qui si grande qu'elle puisse être ne sera à la hauteur, De vos sacrifices et vos prières pour moi. Je prie Dieu, le tout puissant, de vous protéger et de vous procurer santé, Bonheur et longue vie...

Je ne pourrais jamais oublier d'exprimer mon profond amour à mes très chères sœurs et leurs maris et surtout mes frères et leurs épouses.

A tous les membres de ma famille et ma belle famille sans exception pour le soutien morale.

A mon trinôme **Selma** et **Marwa** qui ont partagé ce travail avec moi et qui sont devenus mes meilleurs amis.

A mes très chers amis : Zineb, Samah, Riheb, Lina, Lamia, Maroua, Hakima, Sihem. A tous les moments qu'on a passé ensemble, à tous nos souvenirs ! Vous êtes pour moi plus que des amis ! Je ne saurais trouver une expression témoignant de ma reconnaissance et des sentiments de fraternité qu'on partage.

A toute ma promotion de biochimie 2019/2020

Toutes les personnes atteintes de l'insuffisance rénale

Tous ceux qui m'aiment et croient en moi.

Ibtissem.

DEDICACE

Je dédie ce modeste travail :

A ma très chère mère

Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier
comme il se doit .ton affectionne couvre, ta bienveillance me guide et
ta présence a mes coté a toujours été ma source de force pour affronter
les différents obstacles

A mon cher père

Tu a toujours été a mes coté pour me soutenir et m'encourager

Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection

A mon très cher frère « Zakaria » et ma belle sœur « Nadjet »

A tous les membres de ma famille pour leur soutien moral

A mes copines Ibtissem et Selma

A ma promotrice Madame « Moud » et ma co -promotrice Madame
« Hamzi » pour leurs temps et leurs aide

A mes enseignantes et aux jurys

Est enfin à vous cher lecteur

Marwa.

Résumé

L'insuffisance rénale chronique est une pathologie fréquente définie par la perte progressive de plusieurs fonctions excrétrices et endocrines du rein, permanente et irréversible résultant un trouble dans le métabolisme phosphocalcique.

Il s'agit d'une étude descriptive analytique dont l'objectif est de déterminer le statut du métabolisme phosphocalcique pour l'évaluation et le suivi des patients hémodialysés et détecter l'intérêt de supplémentation par la vitamine D.

Notre étude est portée sur une population de 40 patients hémodialysés à l'unité d'hémodialyse du centre de transplantation de reins du CHU de Blida hôpital Frantz Fanon dont la population comprend les deux sexes avec une prédominance masculine 55% (45% femmes) et avec un sexe ration de 1,22.

Les perturbations du métabolisme phosphocalcique étaient marquées par une hypocalcémie observée dans 58% des cas d'IRC, une hyperphosphatémie chez 55% des cas, avec une moyenne de 0.97 ± 0.59 g/l, 58.5 ± 28.80 g/l, 58.9 ± 29.25 g/l, $79,47 \pm 10.44$ mg/l et $51,8 \pm 20.23$ mg/l et respectivement pour l'urée, la créatinine, l'acide urique, le calcium et le phosphore.

D'après les articles interpréter; l'HTA est la néphropathie causale majeur de L'IRC suivi par le diabète.

En conclusion, Il est indispensable de proposer les dosages systématiques de la calcémie, phosphorémie, vitamine D et de la PTH de tout sujet atteint d'une IRC à un stade précoce afin de prévenir les complications de cette maladie.

Une supplémentation en vitamine D devient nécessaire en cas d'une hyperparathyroïdie chez les IRC afin de réguler ces troubles métaboliques.

Mots clés : IRC, hémodialyse, calcium, phosphore, PTH, vitamine D.

Abstract

Chronic kidney disease is a frequent pathology defined by the progressive loss of several excretory and endocrine functions of the kidney, permanent and irreversible. This irreversible destruction leads to a disturbance of the phosphocalcic metabolism.

This study describes and analyse the variations of the calcium, the phosphorus and the PTH in the blood during the chronic kidney disease and detect the value of vitamin D supplementation.

Our study focused on a population of 40 hemodialysis patients in the hemodialysis unit service of organ and tissue transplantation, Frantz Fanon Hospital. This population includes both sexes with male dominance 55% (45% women) with a ration of 1.22 genders.

Disturbances of phosphocalcic metabolism were marked by hypocalcemia observed in 58% of cases of CKD, hyperphosphatemia in 55% of cases of CKD, with an average of $0.97\pm 0.59\text{g/l}$, $58.5\pm 28.80\text{g/l}$, $58.9\pm 29.25\text{g/l}$, $79,47\pm 10.44\text{mg/l}$ et $51,8\pm 20.23\text{mg/l}$ and for urea, créatinine, uric acid, calcium and phosphorus respectively.

Based on our study and the interpreted articles; hypertension is the major causative nephropathy of CKD followed by diabetes.

In conclusion, It is essential to propose the systematic dosages of the calcemia, phosphatemia, vitamin D and of the PTH of any affected subject of an IRC in an early stage to prevent the dramatic complications of this disease.

Vitamin D supplementation becomes necessary in case of hyperparathyroidism in CKD to regulate these metabolic disorders.

Key words: CKD, hemodialysis, calcium, phosphorus, PTH, vitamin D.

ملخص

الفشل الكلوي المزمن هو حالة شائعة يتم تحديدها من خلال فقدان التدريجي للعديد من وظائف الغدد الصماء و الطرح للكلى و هو دائم ولا رجعة فيه حيث ينتج عنه اضطرابات الأيضية .

هذه الدراسة وصفية تحليلية, الهدف منها هو تحديد حالة الأيض المعدنية لتقييم و متابعة مرضى غسيل الكلى و اكتشاف دور العلاج باستعمال الفيتامين د .

انجزت هذه الدراسة على مجموعة تتكون من 40 مريض غسيل كللى متواجدين ب وحدة غسيل الكلى مصلحة زرع الاعضاء و الأنسجة بمستشفى فرانس فانون – البليدة . تتضمن كلا الجنسين رجال و نساء بحيث أغلبية المرضى رجال بنسبة 55 % (و 44 % نساء) مع نسبة الجنسين (ر/ن) 1.22.

اما فيما يخص اضطرابات الايض المعدنية حددت ب نقص ملحوظ في نسبة الكالسيوم عند 58% من الحالات و فرط في نسبة الفوسفور عند 55% من الحالات مع متوسط الكالسيوم و الفسفور بنسب تقدر ب 0.59 ± 0.97 جم / لتر ، 58.5 ± 28.80 جم / لتر ، 29.25 ± 58.9 جم / لتر ، 10.44 ± 79.47 مجم / لتر ، 51.8 ± 20 ، 23 مجم / لتر على التوالي.

من خلال دراستنا و بعض المقالات العلمية التي اعتمدنا عليها, ضغط الدم الشرياني هو السبب الرئيسي للفشل الكلوي يليه مرض السكري.

لابد من اقتراح فحوصات منتظمة لقياس نسبة الكالسيوم, الفوسفور, الفيتامين د و الهرمون الدرقي في الدم لجميع المصابين بمرض القصور الكلوي المزمن في وقت مبكر لمنع المضاعفات المفاجئة لهذا المرض.

يصبح العلاج بواسطة الفيتامين (د) ضروري عند مرضى القصور الكلوي في حالات فرط نشاط الغدة الدرقية لتنظيم الاضطرابات الايضية.

الكلمات المفتاحية: العجز الكلوي المزمن, غسيل الكلى الكالسيوم الفوسفور, هرمون الغدة الدرقية, فيتامين (د).

Glossaire

Acidose métabolique : est un trouble de l'équilibre acido-basique défini par une baisse du pH dans le secteur extracellulaire plasmatique (sang) d'origine métabolique.

Artériosclérose : Maladie dégénérative de l'artère affectant les fibres musculaires lisses et les fibres élastiques qui la constituent.

Athérosclérose : Maladie dégénérative de l'artère ayant pour origine la formation d'une plaque d'athérome (dépôt lipidique) sur sa paroi.

Choc septique est une défaillance circulatoire aiguë, entraînant des désordres hémodynamiques, métaboliques et viscéraux, déclenchée par un agent infectieux.

Equilibre acido-basique : Équilibre entre les quantités de substances acides et basiques de l'organisme.

Equilibre hydro-électrique : est l'équilibre qui règne dans l'organisme entre l'eau et les électrolytes.

Erythropoïthène : Hormone responsable de la différenciation et de la prolifération des globules rouges. L'érythropoïétine est essentiellement produite par le rein (90 %), mais également par le foie (10 %). C'est l'hypoxie tissulaire (baisse de l'oxygénation dans les tissus) qui déclenche sa synthèse.

Hyperparathyroïdie : Affection caractérisée par un excès de sécrétion de parathormone par une ou plusieurs glandes parathyroïdes.

Hyperparathyroïdie primaire : est liée au dérèglement d'une ou de plusieurs glandes parathyroïdes.

Hyperparathyroïdie secondaire : est due à une hypocalcémie et/ou à une hyperphosphatémie elle est le plus souvent une complication de l'insuffisance rénale sévère.

Intoxication alcoolique : C'est la prise consécutive de plusieurs verres d'alcool, provoquant un état d'ivresse.

La rénine : Enzyme sécrétée par une zone du rein située près des glomérules et nommée appareil juxtaglomérulaire.

Le débit de filtration glomérulaire (DFG) : est le volume de liquide filtré par le rein par unité de temps. C'est une valeur qui permet de quantifier l'activité du rein.

Le péritoine : membrane qui tapisse les parois intérieures de l'abdomen et recouvre les organes qui y sont contenus.

Osteodystrophie : Toute maladie caractérisée par des anomalies de la croissance et du développement des os.

Osteomalacie : Décalcification osseuse de l'adulte et du sujet âgé.

Ostéoporose : Diminution progressive de la trame protéique de l'os, qui reste cependant normalement minéralisé.

Pancératite aiguë : inflammation aiguë du pancréas, souvent étendue aux tissus voisins.

Polykystose rénale : c'est une maladie génétique héréditaire affectant les reins. Elle est caractérisée par la formation de kystes au niveau des reins.

Rachitisme : Maladie de l'enfance et de l'adolescence due le plus souvent à une carence en vitamine D et se traduisant par une minéralisation insuffisante des os.

Syndrome de Burnett : est dû à une consommation excessive et prolongée de lait et/ou de médicaments antiacides.

Traumatisme : désigne toute blessure ou lésion physique.

Liste des abréviations

ATP	l'adénosine triphosphate.
Ca	Calcium.
CaSR	Calcium-sensing receptor.
DFG	Débit de filtration glomérulaire
DP	Dialyse péritonéale.
EER	Epuration extrarénal.
EGF	l'epidermal Growth factor.
EPO	L'érythropoïétine.
FAV	Fistule artério-vineuse.
FGF23	FibroblastGrowth Factor23.
HD	Hémodialyse.
HPTII	Hyperparathyroïdie secondaire.
HTA	Hypertension artérielle.
IGF1	l'insuline-like Growth factor 1.
IRA	Insuffisance rénale aigue.
IRC	Insuffisance rénale chronique.
IRT	Insuffisance rénale terminale.
K/DOQI	Kidney Disease Outcomes Quality Initiative.
MRC	Maladie rénale chronique.

Pi	Phosphore.
PTH	Parathormone.
TCD	Tube contournée distale.
TCP	Tube contournée proximale.
TmPi	Taux maximale de phosphore.
VDR	vitamine D receptor.

Liste des figures

Figure I.1. L'appareil urinaire	04
Figure I.2. Structure interne du rein	05
Figure I.3. Structure d'un néphron	08
Figure I.4. Types de néphron	08
Figure I.5. Les fonctions de base de néphron.....	10
Figure I.6. Vascularisation rénale	11
Figure I.7. Principe d'hémodialyse.	17
Figure I.8. Dialyse péritonéale	19
Figure I.9. Les étapes de dialyse péritonéale	20
Figure I.10. Transplantation rénale.....	21
Figure I.11. Métabolisme phosphocalcique.....	23
Figure I.12. Effet de la PTH sur le calcium	27
Figure I.13. Biosynthèse de la vitamine-D.....	28
Figure I.14. Rôle de la vitamine D.....	29
Figure I.15. Physiopathologie d'hyperparathyroïdie secondaire au cours d'IRC	30
Figure III.16. La répartition des patients selon le sexe.....	47
Figure III.17. Représentation des Variations de la concentration de l'urée	48
Figure III.18. Représentation des Variations de la concentration de la créatinine	49
Figure III.19. Représentation des Variations de la concentration de l'acide urique.....	50

Figure III.20. Représentation des Variations de la concentration de calcium.....	51
Figure III.21. Représentation des Variations de la concentration de phosphore.....	53
Figure III.22. Répartition des patients selon la néphropathie causale dans l'ouest d'Algérie	55
Figure III.23. Répartition des patients selon la néphropathie causale en Martinique.....	55
Figure III.24. Répartition des patients selon la néphropathie causale au Maroc.....	56
Figure III.25. Répartition des patients selon la néphropathie causale au Maroc.....	56
Figure III.26. Répartition des patients selon la variation des concentrations de PTH.....	57
Figure III.27. Répartition des patients selon la variation des concentrations de PTH.....	58

Liste des tableaux

Tableau I.1. Les stades de la maladie rénale chronique.....	13
Tableau II.2. Le mode opératoire de l'urémie.....	38
Tableau II.3. Le mode opératoire de l'acide urique.....	39
Tableau II.4. Le mode opératoire de la créatinémie.....	40
Tableau II.5. Le mode opératoire de la vitamine D.....	44
Tableau II.6. Les valeurs de références de la vitamine D.....	45
Tableau III.7. Quelques résultats des études sur la supplémentation en vitamine D chez les patients atteint d'IRC.....	60

Sommaire

Remerciement	
Dédicaces	
Glossaire	
Résumés	
Liste des abréviations	
Listes des figures	
Liste des tableaux	
Introduction.....	01

CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. LES REINS	04
I.1. Le système urinaire.....	04
I.2. Anatomie des reins	05
I .3.Localisation des reins	06
I.4.Les fonctions des reins	06
I.4.1. Fonctions exocrines	06
I.4.2. Fonctions endocrines	06
I.5. Le néphron.....	07
I.6. Les fonctions du néphron.....	09

I.7. Vascularisation rénale.....	10
I.8. Histologie des reins.....	11
II. INSUFFISANCE RENALE	12
II.1 Insuffisance rénale aiguë	12
II.2 Insuffisance rénale chronique	12
II.2.1. Classification d'Insuffisance rénale chronique	12
II.2.2. Les symptômes de l'insuffisance rénale chronique	13
II.2.3. Diagnostic de l'insuffisance rénale chronique	14
II.2.4. Les marqueurs biologiques de la maladie rénale chronique	14
II.2.5. Les causes de l'insuffisance rénale chronique	15
II.2.6. Les conséquences de l'insuffisance rénale chronique	16
II.2.7. Traitement de suppléance	16
II.2.7.1. Dialyse	16
II.2.7.1.1. Hémodialyse	17
II.2.7.1.2. Dialyse péritonéale	19
II.2.7.2. Transplantation rénale	20
II.2.8. Traitement de prévention	21
II.2.9. Les objectifs de traitement	22
II.3 Insuffisance rénale terminale	22
III. METABOLISME PHOSPHOCALCIQUE	22
III.1. Calcium.....	23
III.2. Phosphore.....	25

III.3. Principaux acteurs de régulation de métabolisme phosphocalcique.....	26
III.3.1. Parathormone	26
III.3.2. La vitamine D.....	27
III.3.3. Calcitonine.....	29
IV. TROUBLES DE METABOLISMES PHOSPHOCALCIQUES	29
IV.1. Physiopathologie au cours d'IRC.....	30
IV.1.1. Trouble de calcium.....	31
IV.1.2. Trouble de phosphore	32

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

1. Matériel.....	35
1.1. Lieu et durée de stage	35
1.2. Les objectifs.....	35
1.3. Population étudié	35
1.3.1. Critères d'inclusion	35
1.3.2. Critères d'exclusion	35
1.4. Recueil des données.....	36
1.5. Analyse des données.....	36
1.6. Matériel biologique	36
1.7. Matériel non biologique	36
2. Méthode.....	37
2.1. Méthode de Prélèvement du sang	37

2.2. Méthode de dosage des paramètres biochimiques	37
--	----

CHAPITRE III : RESULTATS ET DISCUSSION

1. Répartition des patients selon le sexe.....	47
2. Variation des paramètres biochimiques.....	48
2.1. Variation d'Urée.....	48
2.2. Variation de Créatinine	49
2.3. Variation de l'acide urique.....	50
2.4 Variation de Calcium.....	51
2.5 Variation de phosphore	52
3. Répartition des patients selon l'âge.....	54
4. Répartition des patients selon la néphropathie causale.....	54
5. Variation de PTH.....	57
6. Variation de Vitamine D.....	58
7. La supplémentation en vitamine D.....	60

CONCLUSION.

LES REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.

ANNEXES.

Introduction

Introduction

Dans le monde, plus de 500 millions de personnes souffrent d'une affection rénale chronique; parmi ceux-ci, plusieurs millions meurent chaque année de complications cardiovasculaires ; la première cause de mortalité des patients insuffisants rénaux chroniques. **(Moonen et Warling , 2009).**

D'après **Lacour et Massy, (2013)**.L'insuffisance rénale chronique (IRC) correspond à la perte progressive et irréversible des fonctions des reins. Elle résulte de la réduction du parenchyme rénal fonctionnel.

La classification universelle utilisée aujourd'hui distingue cinq stades dans la maladie rénale chronique (MRC) qui correspond aux situations caractérisées par la présence de signes biologiques de néphropathie ou par une diminution du DFG. Les 2 premiers stades correspondent à la présence de signes de néphropathie sans altération de la fonction rénale (stade 1) ou avec une réduction minimale du DFG (stade 2). Le stade 3 correspond à une réduction modérée du DFG, le stade 4 à une réduction sévère et le stade 5 à une insuffisance rénale terminale (DFG < 15 ml/ min) **(Lacour et Massy, 2013)**.

Selon Jean et Chazot, (2019) .Au cours d'IRC, on observe fréquemment des anomalies phosphocalciques biologiques associées à une pathologie des glandes parathyroïdiennes, une atteinte osseuse communément nommée Osteodystrophie rénale et des calcifications cardiovasculaires. Ces perturbations sont constantes et se manifestent par des anomalies des concentrations sériques du phosphore, du calcium et des hormones régulatrices comme l'hormone parathyroïdienne (PTH), le calcitriol (1,25-OH₂ cholécalciférol).

Lorsque la fonction rénale est profondément altérée, un traitement de suppléance devient nécessaire afin d'assurer une homéostasie suffisante pour être compatible avec la vie ; Le recours aux techniques de suppléance de la fonction rénale s'impose lorsque la filtration glomérulaire est proche des 10 ml/min. **(Moonen et Warling, 2009).**

Le patient ayant une insuffisance rénale chronique (IRC) est exposé, quelle que soit la nature de la néphropathie initiale, à plusieurs risques : la progression de la maladie rénale pouvant aboutir au stade terminal requérant dialyse et/ou transplantation, mais aussi à un risque accru de morbi-mortalité cardiovasculaire et à des complications spécifiques. **(Belenfant et al., 2012).**

Introduction

Notre travail est basé sur le Statut phosphocalcique chez des patients souffrants d'une insuffisance rénale chronique et traiter par l'hémodialyse puis détecter intérêt de la supplémentation par vitamine D en cas de carence chez les hémodialisés.

Ce projet de fin d'études est divisé en deux parties : une partie bibliographique dans laquelle nous apportons des généralités sur la physiologie des reins, l'insuffisance rénale puis le métabolisme phosphocalcique et ces troubles associés s'agissant de la deuxième partie expérimentale , elle comporte une description du matériel utilisé et le protocole suivi durant l'expérimentation, finalement une interprétation et une discussion des résultats obtenus suivi par une conclusion et des perspectives sont présentées dans ce manuscrit .

Chapitre I :

Synthèse

bibliographique

I. Les reins

La survie et le bon fonctionnement des cellules nécessitent la stabilité de la concentration de sel, d'acides et d'autres électrolytes dans les liquides extracellulaires, ainsi que l'élimination continue de déchets toxiques du métabolisme produits par les cellules au cours de leurs activités. Les reins ont un rôle essentiel dans l'homéostasie en contribuant à la régulation de la concentration de nombreux constituants du plasma, notamment l'eau et les électrolytes, et en éliminant les déchets du métabolisme sauf le CO₂. (Sherwood, 2006).

I.1 Le système urinaire

Est l'un des systèmes excréteurs de l'organisme. Il comporte 2 reins qui sécrètent l'urine, 2 uretères qui transportent l'urine des reins à la vessie, 1 vessie qui collecte et stocke l'urine, 1 urètre par lequel l'urine passe de la vessie vers l'extérieur (Figure. I.1). Il joue un rôle vital dans le maintien de l'homéostasie de l'eau et des électrolytes dans le corps. (Cosserat, 2015).

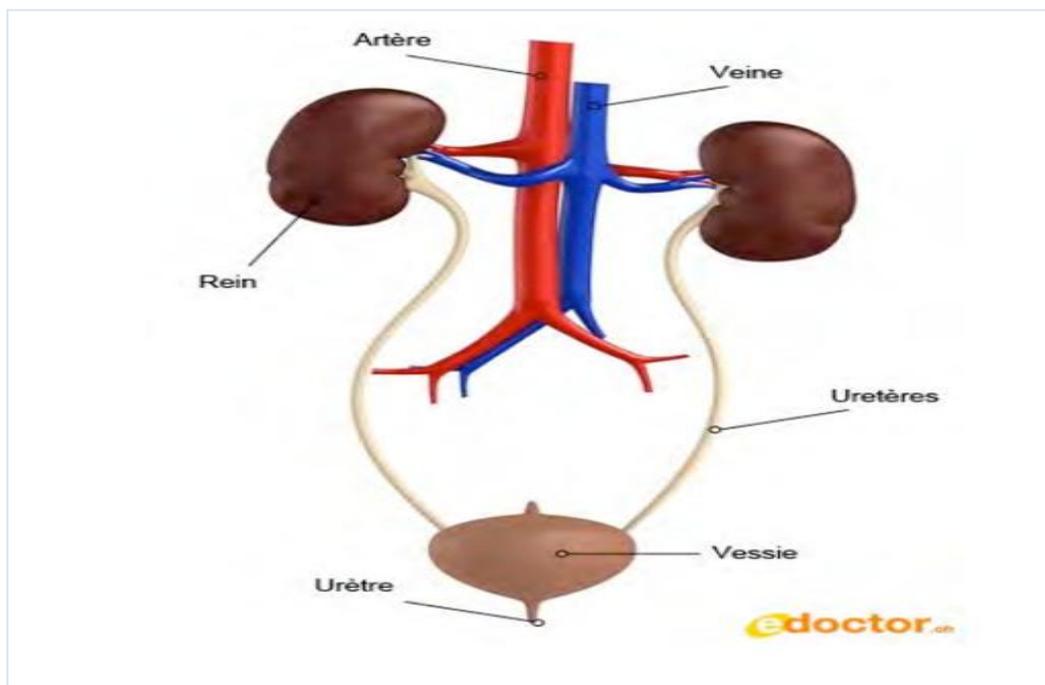


Figure I.1 : appareil urinaire (Steimer, 2017)

I.2. Anatomie des reins

• Les reins humains sont deux organes rétropéritonéaux et paravertébraux pesant chacun approximativement 150 g. Leurs dimensions sont environ 11 à 12 cm de longueur (la hauteur de trois vertèbres sur les clichés radiologiques), 6 cm de largeur et 3 cm d'épaisseur. Le rein droit est habituellement un peu plus bas et un peu plus petit (différence de 0,5 cm) que le rein gauche. **(Gougoux, 2005).**

• 3 aires tissulaires peuvent être distinguées sur une coupe longitudinale du rein vue à l'œil nu **(Figure I.2)**

- une capsule fibreuse, externe, entourant le rein;
- le cortex, couche tissulaire rouge-brun immédiatement au-dessous de la capsule et extérieure aux pyramides ;
- la médullaire, couche la plus interne, présentant des stries pâles coniques, les pyramides rénales.
- Le hile est le bord médial concave du rein par où passent le sang et les vaisseaux lymphatiques rénaux, l'uretère et des nerfs. **(Cosserat, 2015).**

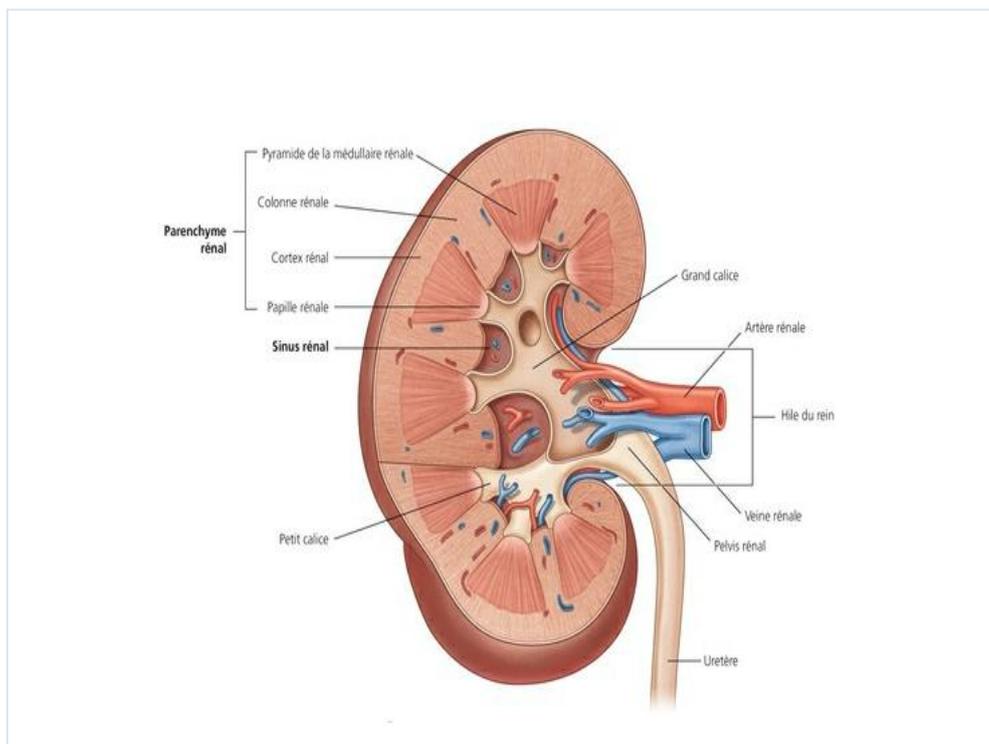


Figure I.2. Structure interne du rein **(Dupont ,2015)**

I.3. Localisation des reins

Les reins se situent dans la région abdominale, en arrière du péritoine, plaqués contre la paroi abdominale postérieure, de part et d'autre du rachis lombaire dans la fosse lombaire. Ils sont donc rétropéritonéaux. Un rein de taille normale n'est pas palpable du fait de sa situation très postérieure dans la fosse lombaire. Dans certaines situations pathologiques, le rein peut augmenter de taille : l'examineur palpera alors le rein en plaçant une main en arrière sur la paroi abdominale postérieure et en appuyant en avant sur l'hypochondre avec l'autre main : c'est le contact lombaire. Les reins se projettent de la onzième côte au processus transverse de L3. Ils sont donc en partie protégés par les dernières côtes. Le rein droit est situé plus bas que le gauche. (Dupont, 2015).

I.4. les fonctions des reins

I.4.1. Fonctions exocrines

Les reins assurent la formation de l'urine et la purification du sang de ses déchets.

Ils filtrent environ 180 litres de sang par jour au niveau du glomérule, il en résulte la formation de l'urine primitive qui va subir des transformations à l'intérieur du tubule en réabsorbant certaines substances et en excréant d'autres aboutissant à la formation de l'urine définitive et assurant ainsi un équilibre hydro électrolytique, un équilibre acido-basique et éliminant les toxiques du corps humain à savoir essentiellement l'urée, la créatinine et l'acide urique. (Kaci et Yakoubi, 2017).

I.4.2. Fonctions endocrines

Le rein intervient dans la production et dans la sécrétion d'hormones :

La rénine ; hormone exclusivement synthétisée par le rein, est à l'origine de la production de l'angiotensine II à partir de l'angiotensinogène et de l'aldostérone, hormones intervenant dans la régulation de la pression artérielle.

L'érythropoïétine (EPO) ; autre hormone synthétisée par les reins, stimule la production médullaire des érythrocytes et régule la masse globulaire. Elle est sécrétée par certaines cellules péri tubulaires spécialisées (fibroblastes interstitiels) en réponse à la baisse de la pression en oxygène dans le rein.

La formation du **calcitriol** (1 α 25 La 1 α) ; présente exclusivement au niveau des cellules tubulaires proximales, synthétise la forme active de la vitamine D.

Le rein intervient dans un certain nombre d'interconversions métaboliques, comme la néoglucogenèse, le métabolisme des lipides ou de l'homocystéine. Il assure également la synthèse de facteurs de croissance agissant selon un mode autocrine ou paracrine : l'insuline-like Growth factor 1 (IGF1) responsable de l'hypertrophie rénale, l'epidermal Growth factor (EGF). (**Kaci et Yakoubi, 2017**).

I.5. Le néphron

Selon Lawrence *et al.*, (2018). Le néphron c'est une structure tubulaire composée d'une seule couche de cellules épithéliales. (**Figure I.3**).

- Il est formé de :

Corpuscule de Malpighi : C'est le composant filtrant initial du néphron. Il est composé de deux structures distinctes, la capsule de Bowman ; un tubule à extrémité aveugle constitué d'une seule couche de cellules épithéliales et le glomérule qui est une touffe compacte de capillaires, qui envahissent la capsule de Bowman.

Tube proximale : Le tubule contourné proximal (TCP) est le premier segment du tubule rénal, qui est divisé en trois segments morphologiquement distincts. Les cellules du segment contourné proximal du tubule (segment S1) ont une membrane apicale amplifiée appelée bordure de brosse par rapport au segment contourné proximal tardive et droite du tubule (segments S2 et S3).

Anse de Hénele : est un prolongement du tubule proximal contourné englobant branche descendant mince, branche ascendant mince et branche ascendant épais.

Le tubule distal et le canal collecteur : Le tubule contourné distal (TCD) et le tube collecteur constituent le néphron terminal. Le tubule distal peut être divisé en un tubule distal contourné précoce et un tubule distal contourné tardif en raison de leur structure et de leurs fonctions différentes.

- Les néphrons sont classés comme des néphrons corticaux ou juxta-médullaires superficiels, qui se distinguent par l'emplacement de leurs glomérules (**Figure I.4**). La majorité sont corticaux, dont les glomérules sont situés dans le cortex rénal. Environ

15 % des néphrons sont juxta-médullaire avec le corpuscule rénal situé près de la jonction corticomédullaire.

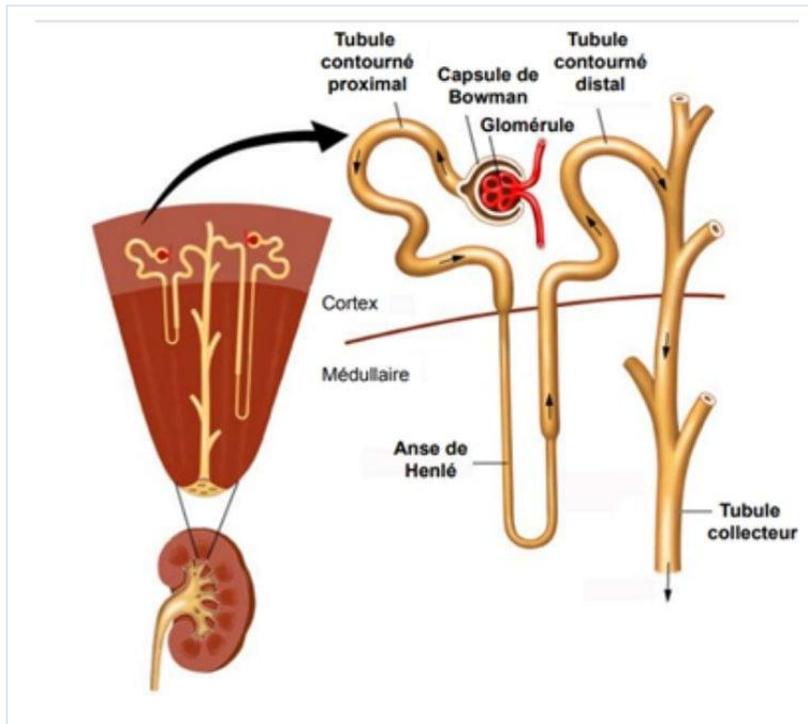
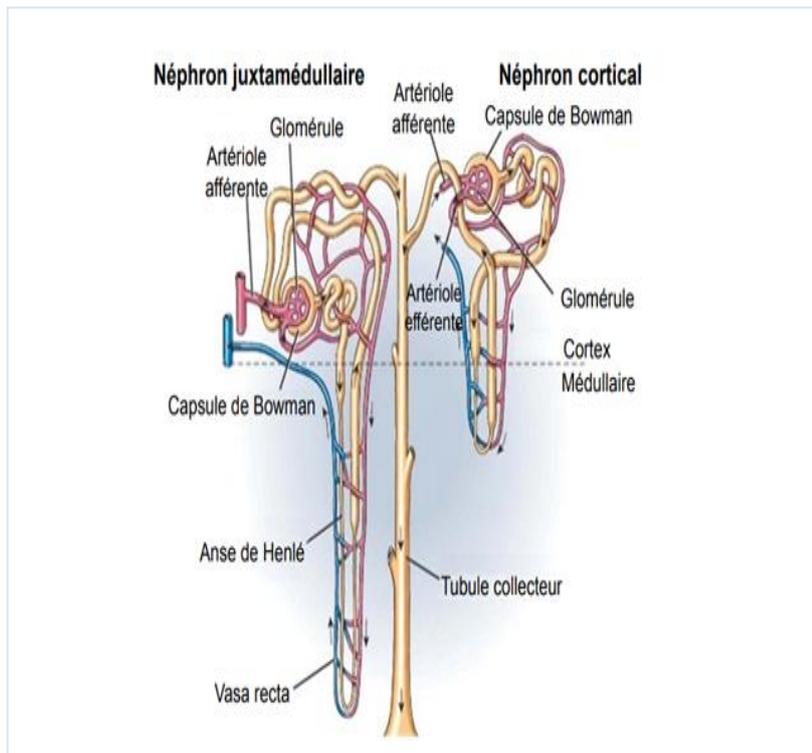


Figure I .3 : structure d'un néphron (Godin-Ribuot, 2011)



Figures I .4 : types de néphron (Godin-Ribuot, 2011)

I.6. Les fonctions de néphron

Comme illustré dans la (**Figure. I.5**) ; Le fonctionnement de chaque néphron peut être divisé en 3 grandes étapes :

→ Filtration glomérulaire :

La filtration glomérulaire est une première étape vers la production d'urine. L'eau et la plupart des solutés présents dans le plasma sanguin traversent les parois des capillaires glomérulaires (les plus petits des vaisseaux sanguins) pour pénétrer dans la capsule glomérulaire et dans le tubule rénal. Les solutés qui sont dans le liquide s'écoulant dans le pelvis rénal restent dans l'urine et finissent pas être excrétés. (**Anthony, 2017**).

Débit de filtration glomérulaire :

Le débit de filtration glomérulaire (DFG) fait référence à la quantité de filtrat qui s'est formé à chaque minute dans tous les corpuscules rénaux des deux reins. Chez les adultes, la moyenne est de 125 ml/min pour les hommes et de 105 ml/min pour les femmes.

L'homéostasie des liquides corporels impose la nécessité d'un DFG relativement constant.

- Si le DFG est trop élevé, les substances nécessaires peuvent passer dans les tubules rénaux et se retrouver dans les urines.
- Si le DFG est trop faible, tout le filtrat peut être réabsorbé et une quantité insuffisante de déchets excrétée. (**Anthony, 2017**).

→ Réabsorption tubulaire :

La réabsorption est la deuxième fonction de base des néphrons et du tube collecteur.

Lorsque le liquide s'écoule dans les néphrons, des solutés comme le glucose, les acides aminés, l'urée et les ions, ainsi que des protéines et peptides de petite taille, sont renvoyés dans le sang. La réabsorption se produit principalement dans le tubule contourné proximal. Les cellules ainsi que la longueur restante de néphron distal continuent à réabsorber l'eau et les ions sélectionnés afin de maintenir l'homéostasie. (**Anthony, 2017**).

→ Sécrétion tubulaire :

La troisième fonction des néphrons et du tube collecteur est la sécrétion tubulaire, le transfert de substances telles que les ions hydrogène (H⁺), le potassium (K⁺), les ions

ammonium (NH_4^+), certains médicaments présents dans le sang et cellules tubulaires dans le liquide tubulaire. (Anthony, 2017).

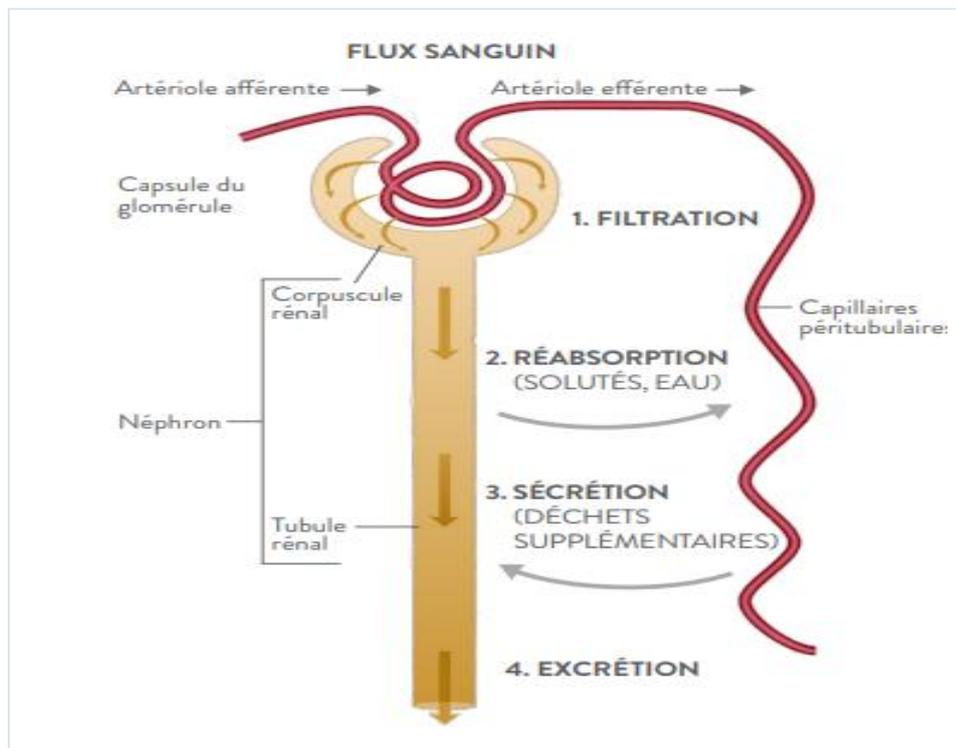


Figure. I.5 : Les fonctions de base de néphron. (Anthony, 2017).

I.7. La vascularisation rénale

D'après Duphon, (2015). La vascularisation rénale est assurée par l'artère rénale et la veine rénale ; Les artères rénales sont issues de l'aorte en regard de L1. L'artère rénale se divise en trois branches, qui vont pénétrer dans le hile rénal et à leur tour se subdiviser en artères de plus en plus petit calibre (artères interlobulaires) pour le cortex et la médullaire. Les veines rénales sont issues de la confluence de veinules drainant le cortex et la médullaire. Elles quittent le rein par le hile pour aller se jeter dans la veine cave inférieure (la veine rénale gauche a un plus long trajet que la droite). (Figure. I.6)

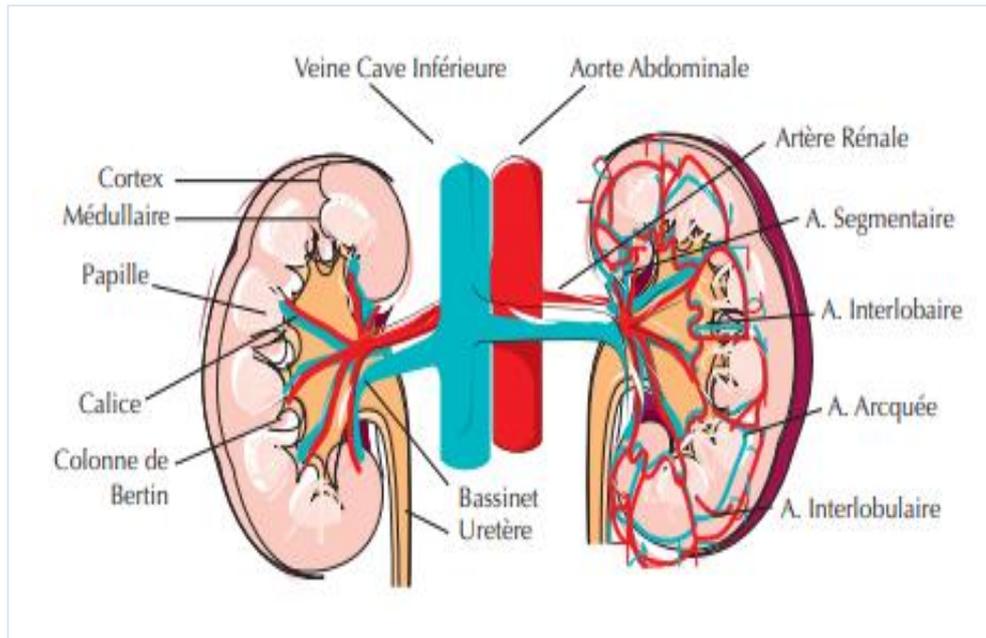


Figure. I.6. Vascularisation rénale (Guentin *et al.*, 2012).

I.8. Histologie des reins

Le glomérule contient trois types principaux de cellules ; chacun de ces types de cellules a une structure et une fonction propre :

- les cellules endothéliales glomérulaires : composants importants de la paroi capillaire glomérulaire, délimitent des pores, ces cellules ont pour fonction de réguler le tonus vasomoteur, l'hémostase, et permettent aux molécules du sang circulant d'avoir accès à la membrane basale glomérulaire sous-jacente.
- les cellules épithéliales glomérulaires (podocytes) ; ou pédicelles : reposant sur une lame basale et entourant les capillaires glomérulaires. Un ensemble de podocytes constitue un réseau complexe appelé; fente de filtration.
- Les cellules mésangiales : représentent environ un tiers des cellules glomérulaires, siégeant dans la région centrale du glomérule, elles synthétisent de nombreuses enzymes comme la rénine et la protéinase, et des hormones, facteurs de croissance et des prostaglandines. Les cellules mésangiales permettent aussi de réguler la surface de filtration du glomérule en se contractant sous l'influence des endothélines (Geoffrey, 2008).

II. Insuffisance rénale

L'insuffisance rénale résulte d'affections des reins, caractérisées par une diminution du nombre du néphron. Ce qui réduit de la capacité des reins à assurer la filtration et l'élimination des déchets du sang, à contrôler l'équilibre du corps en eau et en sels et à régulariser la pression sanguine. (Larousse, 2016).

II.1 Insuffisance rénale aigue

D'après **Limat *et al.*, (2018)** l'insuffisance rénale aiguë est un syndrome résultant d'une détérioration rapide (en quelques heures ou quelques jours) de la fonction excrétrice des reins qui était antérieurement stable.

Elle est le reflet d'une diminution brusque de l'épuration rénale avec accumulation des produits azotés (urée, créatinine, acide urique) et plus d'une centaine de toxines, dites « urémiques », avec des effets délétères pléiotropes sur les différentes fonctions de l'organisme.

Elle peut être :

- pré-rénale ou fonctionnelle ;
- post-rénale par obstruction des voies excrétrices ;
- organique par lésions du parenchyme rénal.

II.2 Insuffisance rénale chronique

L'insuffisance rénale chronique se définit comme la perte irréversible des fonctions du rein. Elle correspond à une destruction progressive et irrémédiable des néphrons. Elle apparaît lorsqu'il ne reste plus qu'un tiers des néphrons fonctionnels. (Olmer, 2007).

II.2.1 Classification d'Insuffisance rénale chronique

Selon (**Dussol, 2010**) ; La classification des maladies rénales chroniques selon les recommandations internationales est définie en 05 stades (sur la base de la filtration glomérulaire estimée à partir de la clearance calculée) (**Tableau. I.1**) :

→ L'insuffisance rénale est considérée comme absente pour des clearances calculées supérieures à 90 ml/min, mais dans ce cas, la présence d'anomalies rénales définit une néphropathie chronique sans insuffisance rénale (**stade1**).

- L'insuffisance rénale chronique est dite débutante pour une clearance calculée comprise entre 60 et 89 ml/min, en association avec une maladie rénale connue (**stade 2**) ;
- L'insuffisance rénale chronique est dite modérée pour une clearance calculée comprise entre 30 et 59 ml/min (**stade 3**) ;
- L'insuffisance rénale est dite sévère pour une clearance calculée de 15 à 29 ml/min (**stade 4**) ;
-
- L'insuffisance rénale est terminale pour une clearance rénale inférieure à 15 ml/min (**stade 5**) ;

Tableau I.1. Les stades de la maladie rénale chronique. (Perlemuter, 2019).

Stade	Description	DFG (ml/min)
1	Maladie rénale chronique à fonction rénale normale.	>90
2	IRC légère	60-89
3	IRC modérée	30-59
	Stade 3A	45-59
	Stade 3B	30-44
4	IRC sévère	15-29
5	IRC terminale	<15

II.2.2 Les symptômes de l'insuffisance rénale

Une insuffisance rénale débutante est souvent asymptomatique, c'est-à-dire sans symptôme. C'est bien ce qui rend le diagnostic précoce parfois difficile. Par ailleurs les premiers symptômes, comme la fatigue, sont souvent peu spécifiques et peuvent se retrouver dans de nombreuses maladies. L'hypertension artérielle peut apparaître précocement: la fonction rénale doit être vérifiée chez tous les patients hypertendus. Quand l'insuffisance rénale est sévère, une fatigue excessive apparaît.

De nombreux patients se plaignent aussi de nausées, vomissements, d'une perte de l'appétit, d'amaigrissement et de crampes musculaires. La sensibilité aux infections est augmentée. Des démangeaisons et une peau sèche sont également des signes cliniques fréquents. (Mareen, 2016).

II.2.3 Diagnostic de l'insuffisance rénale chronique

Dans de nombreux cas, c'est une anomalie sanguine et/ou dans les urines qui met le médecin sur la piste de l'insuffisance rénale chronique. Afin de se faire une idée complète de votre état de santé, le médecin vous interrogera sur les symptômes ou les maux dont vous souffrez et sur vos antécédents médicaux et chirurgicaux (anamnèse). Il réalisera par ailleurs des examens complémentaires sanguins, urinaires ou radiologiques. Si votre médecin traitant soupçonne une insuffisance rénale chronique, il s'en remettra probablement à un néphrologue (un spécialiste du rein). De même, l'avis d'autres spécialistes tels qu'un cardiologue ou un urologue pourra s'avérer nécessaire. (Mareen, 2016).

II.2.4 Les marqueurs biologiques de la maladie rénale chronique

A- L'urée

L'urée est un produit d'élimination de l'azote organique. Elle est formée dans le cycle de l'uréogénèse, essentiellement hépatique, par désamination des acides aminés et avec utilisation du CO₂ formé au cours du cycle de Krebs mitochondrial, qui apporte les ATP nécessaires à cette synthèse endergonique. L'uréogénèse est la voie majeure d'élimination des fonctions amines des acides aminés libres, peptidiques ou protéiques. L'autre voie importante d'élimination de l'azote protéique est l'ammoniogénèse, elle aussi hépatique. Les deux produits finaux, l'urée et l'ammoniaque, sont hydrosolubles, donc facilement éliminés par le rein. (Baudin, 2013).

L'urémie est normalement comprise entre 2,5 et 7,5 mmol/L ; elle est plus basse chez la femme et s'abaisse pendant la grossesse ; elle augmente avec l'alimentation riche en azote (viandes...) et avec l'âge ; elle est inférieure d'environ 40 % à la naissance par rapport à l'adulte. (Baudin, 2013).

L'acide urique aussi subit une élimination rénale efficace avec filtration glomérulaire des ions urates et sécrétion tubulaire de la forme acide. L'insuffisance rénale reste la première cause d'augmentation de l'acide urique plasmatique (uricémie), même si elle n'est pas

spécifique ni sensible. Quant à l'acide urique urinaire (uraturie à pH acide), il sert plutôt à diagnostiquer des défauts d'élimination, causes de crises de goutte et de la goutte chronique. (Baudin, 2013).

B- Créatinine

La créatinine, ou N-méthyl-guanidino-glycine, est le produit de déshydratation spontanée de la créatine musculaire qui sert à transférer un groupement phosphate (créatinephosphate) sur l'ADP pour produire spontanément de l'ATP nécessaire à la phosphorylation de la myosine au cours de la contraction musculaire. La créatine est régulièrement synthétisée dans le foie, le rein et le pancréas à partir de la glycine et de l'arginine avec une dernière étape de méthylation dans le foie, d'où elle est sécrétée vers la circulation sanguine pour être prélevée par les cellules musculaires squelettiques par un transporteur membranaire. Puis, après déphosphorylation, elle est transformée en créatinine, qui passe dans la circulation et se retrouve dans les urines. (Baudin, 2013).

La créatininémie est normalement comprise entre 60 et 115 $\mu\text{moles/L}$ chez l'homme et entre 50 et 105 $\mu\text{moles/L}$ chez la femme. Elle ne dépend ni de l'alimentation (sauf des apports carnés) ni de l'état d'hydratation (dans certaines limites), ou encore de la maturité hépatique. La créatininémie est augmentée par l'exercice physique, qui libère de la créatinine musculaire ; donc, elle doit être mesurée au repos (le matin à jeun). (Baudin, 2013).

II.2.5 Les causes de l'insuffisance rénale chronique

L'insuffisance rénale chronique est le plus souvent la conséquence d'une détérioration des reins causée par certaines maladies telles que le **diabète**, les **maladies cardiovasculaires**, ou encore par la consommation abusive de médicaments comme certains antidouleurs ou d'ordre génétique telle la polykystose rénale sont également à l'origine de maladies rénales chroniques. (Mareen, 2016).

D'autres causes d'IRC est la glomérulonéphrite. Il s'agit d'une maladie de type inflammatoire qui frappe tout d'abord les glomérules et n'implique les autres constituants rénaux que dans une phase avancée, la pyélonéphrite, une maladie d'origine infectieuse, souvent favorisée par des altérations congénitales ou acquises des voies excrétoires urinaires, les néphrites interstitielles dont la base est souvent immuno-allergique, et les anomalies congénitales des reins. (Catizone, 1999).

II.2.6 Les Conséquences de l'insuffisance rénale chronique

- Une hypertension artérielle et des troubles cardio-vasculaires;
- des troubles du métabolisme phosphocalcique ;
- une acidose métabolique ;
- une anémie ;
- une hyperkaliémie ;
- une dénutrition;

D'autres complications sont possibles, mais elles sont tardives et ne se voient que chez des patients pour qui le traitement de suppléance est débuté trop tard ou inefficace.

(Collège Universitaire des Enseignants de Néphrologie, 2018).

II.2.7 Traitement de suppléance

Lorsque une IRC arrive au stade terminale il est indispensable de suppléer les fonctions rénale défaillante par dialyse ou par greffe rénale. **(Olmer., 2007).**

II.2.7.1 Dialyse

D'après **Canaud *et al.*, (2016)**. Le terme « dialyse » est un terme générique qui englobe l'ensemble des méthodes d'épuration extrarénale (EER) capables d'épurer les toxines urémiques et de corriger les désordres hydroélectrolytiques, phosphocalciques et acidobasiques résultant de la défaillance des fonctions excrétrices rénales.

De nombreuses méthodes d'EER ont été développées pour répondre aux besoins spécifiques de chaque patient. De façon schématique, elles sont classées en deux catégories :

- les méthodes extracorporelles, représentées par l'hémodialyse (HD) et ses formes dérivées ;
- les méthodes intracorporelles, représentées par la dialyse péritonéale (DP) et ses dérivées.

Dans tous les cas, c'est à partir du sang que les phénomènes d'échanges avec le « milieu extérieur » s'établissent et permettent de rétablir périodiquement l'homéostasie et la composition du « milieu intérieur » du patient urémique.

II.2.7.1.1 Hémodialyse

L'hémodialyse est pratiquée à l'aide d'un générateur de dialysat et les échanges avec le sang se font dans un circuit extracorporel sous l'effet d'un gradient de pression et de concentration principalement. C'est une technique qui nécessite la création d'une FAV afin d'obtenir une voie d'abord permettant d'obtenir un débit suffisant et d'avoir une longévité d'utilisation. C'est la technique de dialyse la plus couramment employée.

L'hémodialyse doit permettre d'épurer le sang de ses déchets et de normaliser les électrolytes plasmatiques. Le « rein artificiel » doit être capable d'assurer ces fonctions. Il faut donc un appareillage complexe qui permette les transferts avec le sang du patient. Les éléments qui composent le circuit extracorporel du patient sont le générateur, le dialyseur, les lignes sanguines, l'eau et les solutions pour hémodialyse (**Figure. I.7**). (**Wielgus, 2013**).

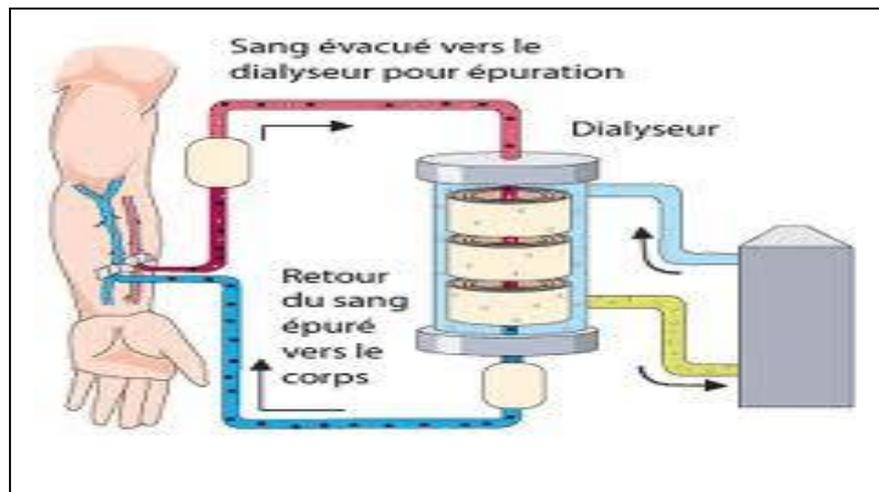


Figure I.7 : principe d'hémodialyse. (**Pegourié, 2012**)

a) Le générateur

D'après **Wielgus, (2013)**. Le générateur est un appareil particulièrement perfectionné qui sert à préparer le dialysat et à assurer la circulation sanguine extracorporelle. C'est en quelque sorte le moteur du système. C'est par son biais que vont être réglés les paramètres suivants :

- Préparation du dialysat
- Valeur du pH du dialysat
- Débit du dialysat
- Temps de dialyse (en moyenne fixé à quatre heures)

- Absence de passage de sang dans le dialysat
- Chauffage du dialysat à 37°C
- Détermination de la quantité d'électrolytes dans la solution
- Perte de poids du patient désirée

b) Les lignes sanguines

Il existe deux lignes sanguines, une pour l' « entrée », l'autre pour la « sortie » du sang du patient vers le dialyseur :

La ligne « artérielle » permet de véhiculer le sang du patient vers le rein artificiel : elle est comprise entre l'aiguille artérielle et le dialyseur et possède un corps de pompe, un système de mesure de la pression « artérielle » et un vase d'expansion pour juguler les différences de pression. (Wielgus, 2013).

La ligne « veineuse » conduit le sang du dialyseur au patient : elle possède un piège à bulle avec filtre, un système de mesure de la pression « veineuse » et un site d'injection (pour l'injection des héparines en début de séance par exemple). (Wielgus, 2013).

c) Le dialyseur

Le dialyseur est l'appareil qui permet l'échange entre la solution de dialyse et le sang du patient. C'est en quelque sorte lui qui joue le rôle de « rein artificiel ». Il se compose d'une membrane semi-perméable qui tout en séparant le sang du patient du dialysat permet les transferts d'un compartiment à l'autre. La circulation se fait à contre-courant afin de faciliter les échanges en maintenant le gradient de concentration des solutés le plus élevé possible.

(Wielgus, 2013).

- **Les risques liés à l'hémodialyse**

Les patients atteints d'insuffisance rénale doivent régulièrement subir une hémodialyse afin de purifier leur sang. Un traitement qui n'est pas sans risques.

L'hypotension ou tension artérielle basse (moins de 90 mm Hg contre 120 mm Hg habituellement) constitue la principale complication de l'hémodialyse. Cette chute de la tension artérielle est provoquée par le prélèvement de liquide dans le sang par l'appareil de dialyse. Une tension artérielle trop basse peut aussi résulter d'un traitement hypotenseur

mal dosé. Le patient hypotendu est pris de vertige et se sent faible. Il peut présenter des problèmes de vue et souffre souvent de migraine. Il peut aussi avoir des crampes à l'estomac. (Segaert P, 2016).

II.2.7.1.2 dialyse péritonéale

La dialyse péritonéale est une méthode de suppléance rénale dont l'efficacité est prouvée et qui offre une alternative utile à l'hémodialyse et à la transplantation rénale dans le cadre du traitement de l'insuffisance rénale chronique au stade terminal. Cette méthode ne comporte pas de circulation sanguine extracorporelle et utilise la cavité péritonéale comme zone d'échange avec le patient urémique, offrant ainsi une méthode d'épuration intracorporelle. Elle permet d'éliminer les déchets azotés, les toxines urémiques mais aussi de rétablir l'équilibre hydroélectrolytique et acido-basique des patients insuffisants rénaux chroniques, Voir (Figure. I.8).

La membrane péritonéale est une séreuse richement vascularisée qui tapisse la cavité péritonéale et les anses intestinales, offre une large surface d'échange avec le patient et permet des échanges de solutés et de solvant entre le dialysat et le sang du patient selon des principes physiques de diffusion et d'osmose. (Figure. I.9). (Canaud *et al.*, 2013)

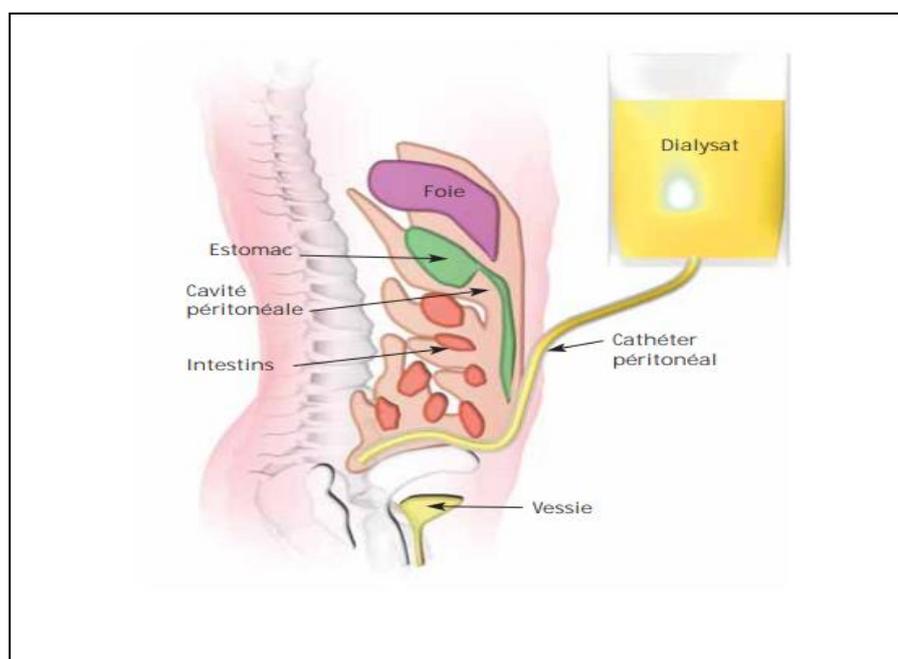


Figure. I.8. dialyse péritonéale. (Olmer, 2007)

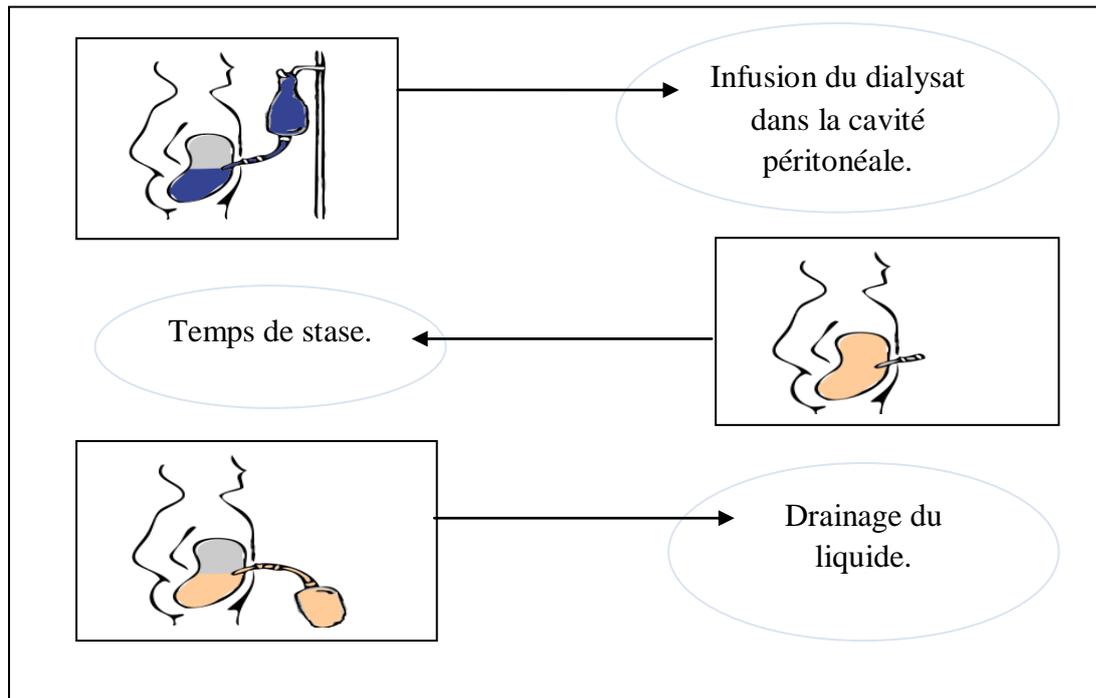


Figure. I.9. les étapes de dialyse péritonéale. (Pegourié, 2012).

II.2.7.2 Transplantation rénale

Plus de 50 ans après le succès des deux premières transplantations rénales, elle est devenue le traitement de choix de l'insuffisance rénale chronique terminale. (Anglicheau *et al.*, 2015).

La transplantation consiste à prendre le rein d'un donneur, le plus souvent décédé, et à le placer chez le greffé au niveau de la fosse iliaque par anastomose chirurgicale des vaisseaux sanguins nourriciers et/ou fonctionnels. Pour ce faire, on ne retire donc généralement pas les reins défaillants. (Figure. I.10).

C'est la solution de première intention car elle permet d'effacer les pathologies associées à l'insuffisance rénale, de s'affranchir des contraintes de dialyse et de pouvoir retrouver une activité professionnelle normale. La survie des patients âgés transplantés est supérieure à celle de sujets du même âge dialysés.

Avant toute greffe, une inscription sur liste d'attente par les établissements autorisés à transplanter doit être faite et des bilans immunologiques doivent être pratiqués afin de s'assurer une compatibilité certaine entre le greffon et son receveur.

La greffe de rein implique cependant un suivi régulier et la mise en place d'un traitement immunosuppresseur auquel l'observance est capitale pour la réussite de la greffe. (**Naudin-Rousselle *et al.* , 2006**).

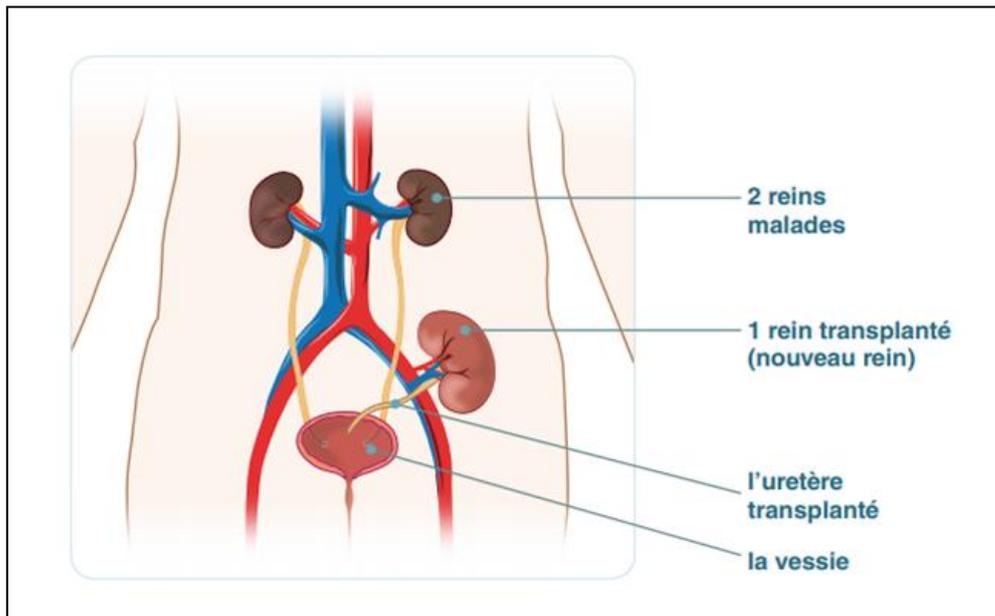


Figure. I.10.transplantation rénale. (PRET ,2012)

II.2.8.Traitement de prévention

- Des apports en vitamine D3 naturelle en cas de carence documentée.
- Une restriction des apports alimentaires en phosphore, par une restriction protéique mais aussi par une limitation des apports en phosphate inorganique de l'industrie alimentaire (conservateurs).
- Les gels d'aluminium ne doivent plus être utilisés (toxicité neurologique et osseuse).
- Des apports calciques mais sans excès (entre 1 et 2,5 g/jour en calcium élément).

Après avis spécialisé, utilisation de dérivés actifs de la vitamine D, 1-a OH-vitamine D3 ou 1,25-(OH)₂ – vitamine D3 , voir calcimimétiques en cas d'hyperparathyroïdie non contrôlée en dialyse. (Collège Universitaire des Enseignants de Néphrologie, 2018).

II.2.9. Les objectifs de traitement sont d'obtenir

- Une calcémie normale.
- Une phosphatémie inférieure à 1,5 mmol/L.
- Une PTH normale avant le stade de la dialyse, puis entre 2 et 9 fois la borne supérieure de la normale chez le patient traité par dialyse.

(Collège Universitaire des Enseignants de Néphrologie, 2018).

II.3 Insuffisance rénale terminale

Diminution du débit de filtration glomérulaire (DFG) ou toute insuffisance rénale chronique nécessitant une épuration extra-rénale ou une transplantation. (Chassard *et al.*, 2015)

III. Métabolisme phosphocalcique

- Les métabolismes du phosphore et du calcium sont étroitement liés du fait de la grande insolubilité du phosphate tricalcique qui compose la structure minérale de l'os. Leur régulation est sous la dépendance d'un système hormonal composé de la parathormone et de la vitamine D et, accessoirement de la calcitonine. (Wémeau *et al.*, 2014)
- L'homéostasie phosphocalcique s'effectue grâce à un contrôle ionique et hormonal complexe qui porte à la fois l'entrée intestinale et la sortie rénale de ces deux ions. L'organisme dispose en outre de réserves importantes d'ions calcium et phosphate dans le squelette minéralisé qui peuvent être rapidement libérées si besoin. (Garabédian *et al.*, 2011).

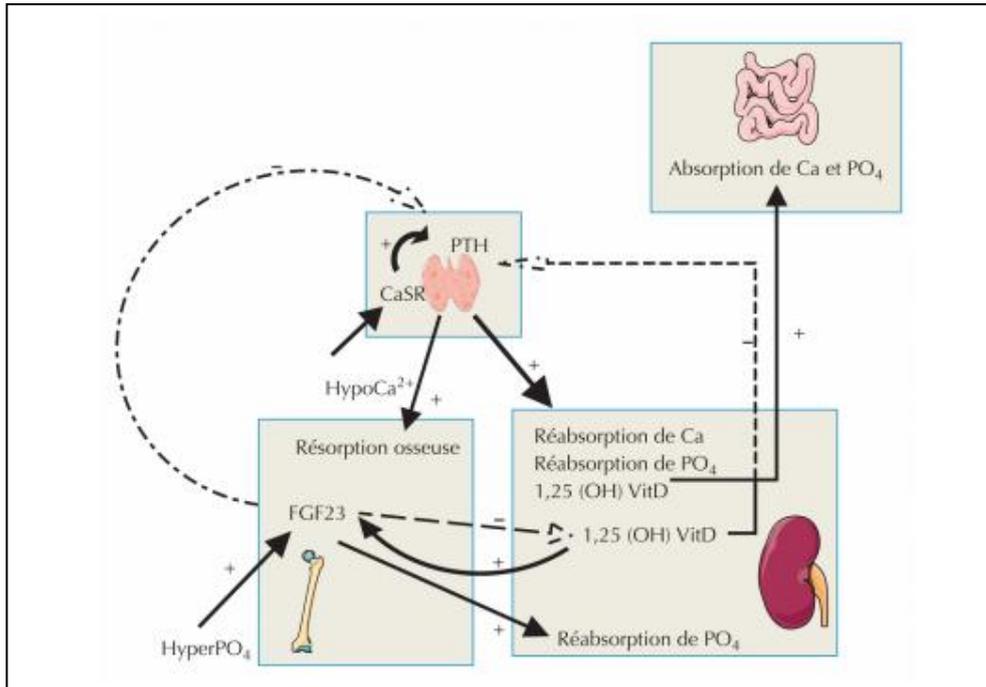


Figure. I.11 : Métabolisme phosphocalcique. (Gueuten *et al.*, 2011)

III.1. Calcium

a) Formes du calcium sanguin

Le calcium est présent dans le plasma sous trois formes : une fraction libre ionisée (calcium $[Ca^{2+}]$), une fraction complexée à des anions de faible poids moléculaire (bicarbonate, phosphate, oxalate, citrate, lactate, etc.) et une fraction liée à l'albumine, correspondant respectivement à 50, 10 et 40 % du calcium plasmatique total. Les deux premières fractions sont ultrafiltrables, c'est-à-dire qu'elles sont librement filtrées par le rein. La somme des concentrations de ces trois fractions représente la calcémie totale. (Boulanger *et al.*, 2014)

b) Rôle

Le calcium est un des éléments minéraux les plus répandus sur terre et le plus abondant dans l'organisme humain. Il est essentiel à un grand nombre de processus biologiques comme le métabolisme de l'os, la coagulation, la conduction nerveuse ou la contraction musculaire, mais il représente aussi le signal intracellulaire en réponse à des stimuli hormonaux, endocrines ou paracrines. (Guidon, 2017).

c) Répartition du calcium dans l'organisme

Le corps humain d'un adulte de 70 kg contient environ 1 kg de calcium dont 99 % sont localisés dans le cristal d'hydroxyapatite du squelette. Une faible partie du calcium osseux, soit 1 %, est rapidement échangeable et peut participer directement au maintien de la calcémie. (Guidon, 2017)

d) Absorption

L'absorption digestive du calcium est limitée à l'intestin grêle et comporte deux mécanismes intriqués :

- une absorption paracellulaire passive tout au long du grêle, peu efficace mais non saturable
- une absorption transcellulaire active essentiellement duodénale mais aussi jéjunale, qui est particulièrement efficace mais saturable. Cette absorption active est dépendante du calcitriol (1-25(OH)) vitamine D. (Vallet et Tack, 2012)

e) Source alimentaire

L'apport alimentaire de calcium varie largement en fonction des habitudes alimentaires et des régions du monde. Les produits laitiers sont la source principale de calcium, mais certaines eaux (embouteillées ou de réseau) peuvent apporter une fraction notable de la ration quotidienne de calcium ainsi que dans : les fruits secs et les légumes (les Noisettes, Amandes, Figes secs, Cresson, Choux, Persil, Haricot secs...) certains eaux et boissons (Eau de robinet, Cidre, eau minérale ...). (Vallet et Tack, 2012)

f) Elimination

En dehors de la perte digestive obligatoire de calcium au cours des périodes de jeûne et de la captation par le tissu osseux d'une partie de la charge calcique d'origine alimentaire, les sorties de calcium sont rénales. L'excrétion urinaire de calcium est conditionnée par deux facteurs, sa filtration glomérulaire (charge filtrée) et son transport par l'épithélium tubulaire rénal après filtration. Ainsi, 98 à 99 % de la charge filtrée sont secondairement réabsorbés par le tubule rénal, pour deux tiers par le tube contourné proximal (TCP), pour 20 à 25 % par la branche ascendante large (BAL) de l'anse de Hénle et pour 5 à 10 % dans les parties distales

du néphron. La réabsorption dans le TCP est modulée par l'état du volume sanguin circulant. (Boulanger *et al.*, 2014)

III.2. Phosphore

a) Forme

Le phosphate plasmatique est à 70 % sous forme de phosphate organique et à 30 % sous forme de phosphate inorganique. Seule la fraction inorganique est dosée. Elle est pour 15 % liée aux protéines et pour 85 % libre, majoritairement sous forme mono- ou dihydrogénée ($\text{H}_2\text{PO}_4^{-1}$ et HPO_4^{-2}) et marginalement sous forme complexée au calcium, magnésium et sodium. (Boulanger et Flamant, 2011).

b) Rôle

Le phosphore a de nombreux rôles essentiels. Il est un composant majeur du minéral osseux, des phospholipides dans les membranes cellulaires et des acides nucléiques. Il forme des liaisons phosphatées à haute énergie dans des composés tels que l'adénosine triphosphate (ATP), est lié aux protéines après traduction en tant que signal intracellulaire et agit comme un tampon de pH important dans le sérum et l'urine. (Lee Goldman, 2019)

c) Répartition de phosphore dans l'organisme

Le phosphore représente 1 % du poids du corps, soit environ 700 g chez l'adulte ; 85 % se trouvent dans le tissu osseux sous forme de cristaux de phosphate de calcium, 14 % dans les cellules des tissus mous où il est impliqué dans de multiples réactions enzymatiques, le métabolisme énergétique, la synthèse des acides nucléiques et des membranes lipidiques, la signalisation intracellulaire et la régulation de l'équilibre acido-basique. Seulement 1 % se situe dans le secteur extracellulaire. (Boulanger et Flamant, 2011).

d) Absorption

Le phosphate est présent dans la majorité des aliments et les apports alimentaires sont généralement compris entre 25 et 60 mmol/j. Dans ces conditions, 60 % à 80 % du phosphate alimentaire est absorbé. Si toutefois ces apports sont inférieurs à 10 mmol/j, une sécrétion nette de phosphate de l'entérocyte vers la lumière intestinale existe. Comme pour le calcium, l'absorption intestinale du phosphate se fait par un processus passif non saturable, prépondérant quand les apports de phosphate sont normaux, et par un processus actif saturable

(lorsque la concentration de phosphate intraluminaire est inférieure à 1 mmol/l environ), impliquant un cotransporteur sodium/ phosphate, NPT2b, dont l'expression à la membrane apicale des entérocytes est stimulée par la 1,25(OH)₂D et des apports faibles en phosphate. (Courbebaisse et Souberbielle, 2011)

e) Source alimentaire

Selon Testud, (2011). L'apport nutritionnel conseillé chez l'adulte, pour la femme comme pour l'homme, est de 750 mg/j. Les besoins sont largement couverts par l'alimentation occidentale normale, car le phosphore est présent dans la quasi-totalité des denrées : céréales, légumes, lait, poissons, viandes et œufs.

f) Elimination

Environ 85 % du phosphore filtré est réabsorbé dans le tube contourné proximal par un processus saturable par des co-transporteurs Na/Pi. Le seuil rénal du phosphore est estimé par le transport rénal maximal (TmPi). Le rapport TmPi/DFG est le facteur essentiel de la régulation de phosphore. L'excrétion urinaire des phosphates est contrôlée par la PTH qui diminue la réabsorption tubulaire et par la calcitonine qui augmente l'excrétion ; mais il existe une régulation liée à d'autres facteurs comme les phosphatonines. (Wémeau *et al.*, 2014)

III.3. Principaux acteurs de régulation de métabolisme phosphocalcique

III.3.1 Parathormone

La PTH est une hormone polypeptidique constituée de 84 acides aminés. Elle est synthétisée dans les cellules principales des glandes parathyroïdiennes sous forme d'une prépro-hormone, clivée en pro-PTH au niveau du réticulum endoplasmique puis en PTH lors du stockage dans des vésicules de sécrétion. La sécrétion de PTH dépend directement de la concentration du calcium extracellulaire détectée par le CaSR. Son dosage est rendu délicat par la circulation de plusieurs formes dégradées. (Vallet et Tack, 2012).

La parathormone (PTH) ; elle est hypercalcémiant et hypophosphatémiant. Elle joue plusieurs rôles (Figure. I.12) :

Elle stimule la 1 α -hydroxylase dans le tubule proximal du rein et augmente par conséquent la production du calcitriol, qui à son tour augmente l'absorption intestinale du calcium et du phosphore ;

Elle augmente la résorption osseuse et donc mobilise de l'os le calcium et le phosphore ; Elle inhibe la réabsorption rénale du phosphore au niveau du tubule proximale et stimule la réabsorption rénale du calcium au niveau du tubule distale.

Cet effet dissocié au niveau du rein permet d'augmenter la calcémie et diminuer la phosphatémie, sans modifier le produit phosphocalcique. (Young, 2015).

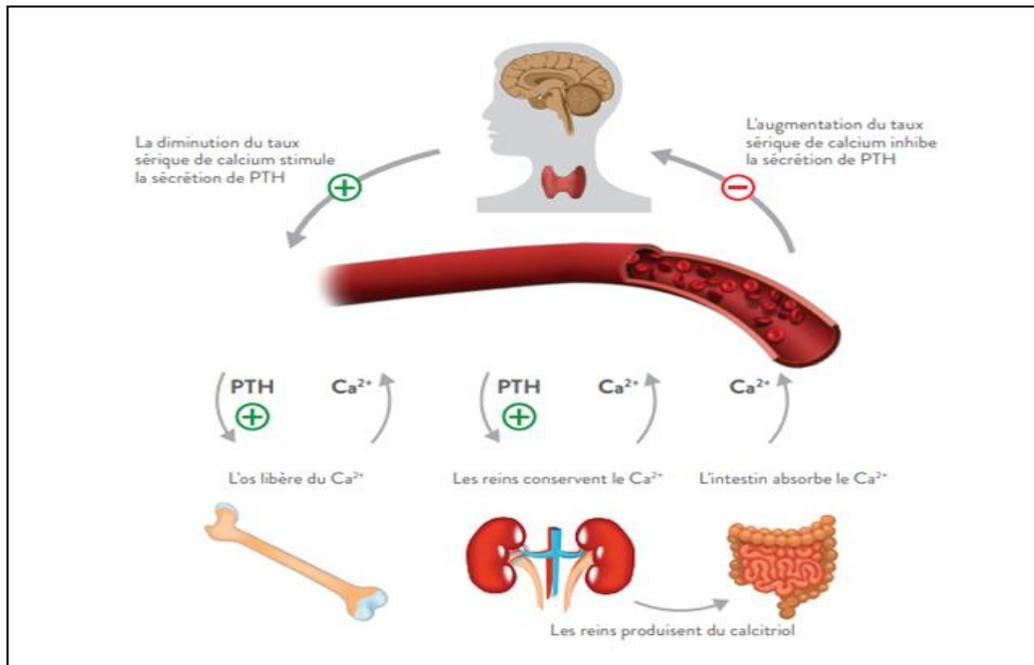


Figure. I.12. effet de PTH. (Anthony, 2017).

III.3.2 La vitamine D

Le terme de « vitamine D » recouvre deux composés. L'ergocalciférol, ou vitamine D₂, est présent dans l'alimentation d'origine végétale (céréales mais également champignons, levures). Le cholécalciférol, ou vitamine D₃, est produit par la peau sous l'action des rayons ultraviolets mais on le trouve également dans des aliments d'origine animale (poissons gras, aliments lactés enrichis) (Tissandié *et al.*, 2006).

Selon Vallet et Tack, (2012). La vitamine D est ensuite hydroxylée de façon, on non régulée en 25-hydroxyvitamine D (25OHD ou calcifédiol) par un cytochrome P450 du foie. Sa demi-vie longue, environ deux semaines, en fait le meilleur moyen d'évaluer le stock en vitamine D. La 25OHD est finalement convertie dans les cellules du tubule proximal du rein dans sa forme active, la 1,25-dihydroxyvitamine D (1,25(OH)₂D ou calcitriol), par l'enzyme mitochondriale 1-alpha hydroxylase. Une hydroxylation sur le carbone 24 est également

possible, avant ou après la 1-alpha hydroxylation, aboutissant à l'inactivation fonctionnelle de la vitamine D. (Figure. I.13).

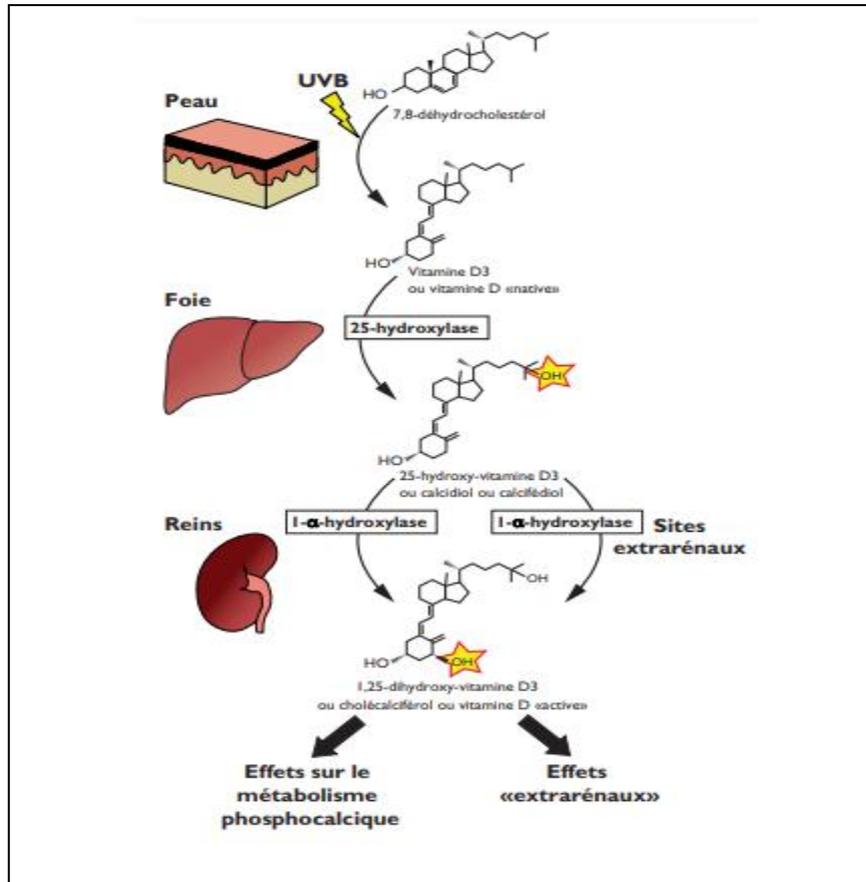


Figure. I.13. Biosynthèse de la vitamine D. (Ernandez et Stoermann-Chopard, 2012).

- Effets de la vitamine D sur le Métabolisme phosphocalcique

D'après Schlienger, (2013). Son rôle premier est de maintenir l'homéostasie phosphocalcique en augmentant l'absorption intestinale du calcium et du phosphore par la synthèse de protéines facilitant le transfert du calcium. Ce processus est activé en cas d'apport calcique faible ou au cours de la croissance, de la grossesse ou encore en cas d'hyperparathyroïdie. Un déficit en vitamine D induit indirectement une élévation de la concentration de parathormone par diminution de l'absorption calcique et donc stimulation du remodelage osseux qui, à long terme, favorise l'ostéoporose du sujet âgé.

Dans l'os, la vitamine D stimule la production d'une cytokine (RANKL), favorisant la résorption osseuse. Le déficit en vitamine D est responsable du rachitisme chez l'enfant et de l'ostéomalacie chez l'adulte. (Figure. I.14)

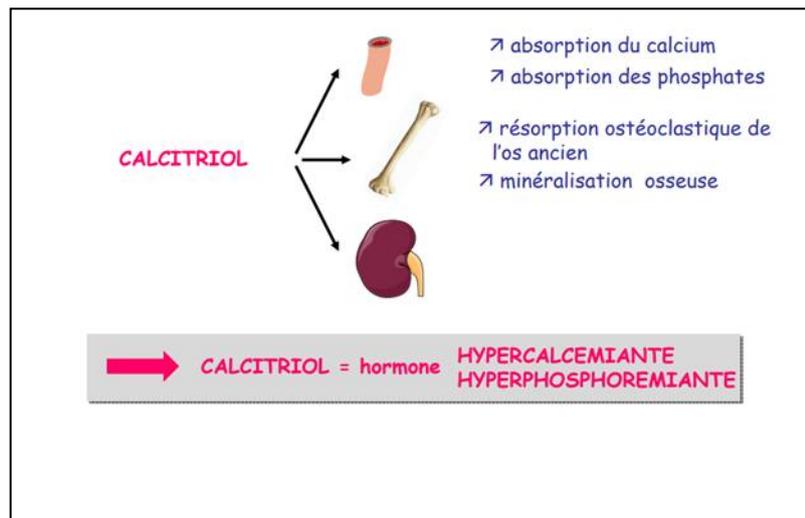


Figure. I.14 : Rôle de la vitamine D. (Schmitt, 2011)

III.3.3 Calcitonine

La calcitonine est une hormone hypocalcémiante et hypophosphatémiante. Sécrétée par les cellules parafolliculaires C de la thyroïde, elle agit en diminuant l'ostéolyse et en augmentant l'ostéogénèse et en diminuant la réabsorption rénale du calcium et des phosphates. En réduisant la synthèse de calcitriol, elle diminue également l'absorption intestinale du calcium. (Wémeau *et al.*, 2014).

IV . Troubles de métabolismes phosphocalciques

Les complications métaboliques de l'insuffisance rénale chronique surviennent parfois encore plus tardivement, quand les reins ont perdu 60 à 70% de leur fonction (hyperphosphatémie, hypocalcémie, anémie, acidose...). (Mareen, 2016).

Les troubles du métabolisme phosphocalcique restent intimement associés à l'insuffisance rénale chronique et demeurent préoccupants chez le patient dialysé. Le contrôle des troubles de ce métabolisme représente l'un des objectifs majeurs dans la prise en charge de l'insuffisance rénale chronique et du patient en dialyse. Les complications qui peuvent en résulter sont de plusieurs ordres : les anomalies osseuses (l'ostéodystrophie, l'ostéomalacie et l'ostéopathie adynamique) et les calcifications vasculaires et tissulaires sont les plus importantes. Il s'agit de complications graves qui menacent la vie des patients en dialyse au point que la correction de ces troubles représente l'un des critères de dialyse adéquate telle

que définie dans les recommandations du Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (K/DOQI). (Moisa *et al.*, 2006).

IV.1 Physiopathologie au cours de l'IRC

Comme illustré à la (figure. I.15) Dans l'IRC, dès que le débit de filtration glomérulaire passe en dessous de 60mL/min/1,73m², on note la réduction de l'excrétion urinaire du phosphate, induisant une hyperphosphatémie. Il va s'ensuivre une cascade d'événements, en commençant par une augmentation de la sécrétion d'une hormone d'origine osseuse dénommée de FGF23 (Fibroblast Growth Factor 23), responsable d'une diminution de la réabsorption proximale des phosphates et de la synthèse rénale de calcitriol. Cette diminution aboutit à une réduction de l'absorption intestinale de calcium, se traduisant par une hypocalcémie. De plus, la diminution du calcitriol entraîne une augmentation de la sécrétion de PTH par rétrocontrôle de parathyroïde (hyperparathyroïdie secondaire), entraînant une augmentation du remodelage osseux avec la résorption et la dégradation corticale. (katti et laalouani,2017)

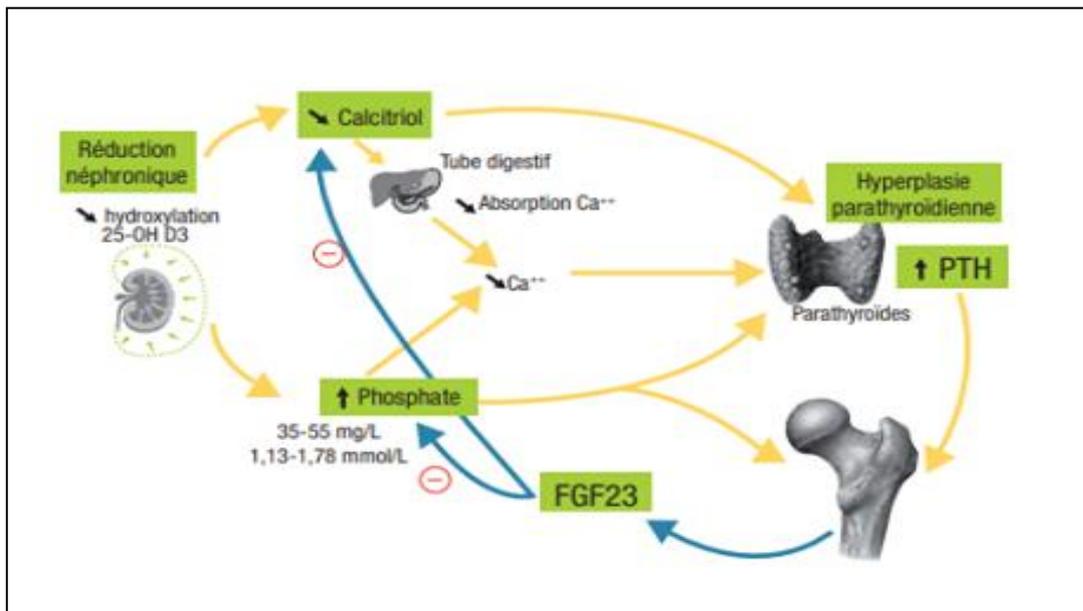


Figure. I.15. Physiopathologie de hyper-parathyroïde secondaire au cours de l'IRC. (Collège Universitaire des Enseignants de Néphrologie, 2018).

IV.1.1 Troubles de calcium

L'homéostasie calcique est le résultat d'une collaboration entre l'os, le rein et le tube digestif sous une médiation hormonale par la parathormone et la vitamine D. Toute variation de la calcémie vers des valeurs pathologiques peut avoir des conséquences viscérales dramatiques avec un risque vital. Les étiologies des troubles de la calcémie sont multiples et souvent multifactorielles (**Guillon et al., 2002**).

A. Hypocalcémie

L'hypocalcémie se définit par une valeur de la calcémie totale (corrigée) inférieure à 2.20 mmol/L ou par une calcémie ionisée inférieure à 1.10 mmol/L.

En réponse à une éventuelle baisse de la calcémie, se crée une hypersécrétion réactionnelle de PTH par les glandes parathyroïdes pour maintenir l'homéostasie. La présence d'une hypocalcémie résulte donc obligatoirement soit d'une insuffisance en sécrétion de PTH (hypoparathyroïdie), soit d'une résistance des organes cibles à la PTH. (**Guillon et al., 2002**)

➤ Cause

- Parathyroïdienne

- L'hypoparathyroïdie est due à un déficit en parathormone (PTH) qui peut être due à une maladie auto-immune ou à l'ablation accidentelle ou à des lésions de plusieurs glandes parathyroïdes lors d'une thyroïdectomie.
- L'hypoparathyroïdie peut être primitive idiopathique ou congénitale. (**Jane, 2018**).

- Non parathyroïdienne

- Pseudo-hypoparathyroïdie sont dues à une insensibilité des récepteurs organiques rénaux et osseux à la PTH.
- Carence en vitamine D : hypovitaminoses D
- L'hypomagnésémie sévère en plus de la résistance à la PTH entraîne également une baisse des sécrétions de PTH. (**Guillon et al., 2002**)

➤ Autres causes

D'autres causes d'hypocalcémie sont :

- La pancréatite aiguë entraîne une hypocalcémie (quand les produits lipolytiques libérés par un pancréas inflammatoire chélatent le Ca).

- L'hypoprotéïnémie (diminue la fraction de Ca liée aux protéines; l'hypocalcémie est alors asymptomatique, le Ca ionisé étant inchangé, cette forme a été dénommée hypocalcémie factice).
- Un choc septique dû à la suppression de la libération de PTH et à la réduction de la conversion de la 25(OH)D en 1,25(OH)₂D.
- L'hyperphosphatémie provoque une hypocalcémie par un mécanisme mal compris. (Jane, 2018).

B. Hypercalcémie

D'après Young, (2015). L'hypercalcémie se définit comme une calcémie totale supérieure à 2,6 mmol/L ou une calcémie ionisée supérieure à 1,6 mmol/L. L'hypercalcémie grave se définit par une calcémie totale supérieure à 3,5 mmol/L ou comme une hypercalcémie symptomatique quelle que soit sa valeur. L'hypercalcémie est le résultat d'une dérégulation entre les flux entrants et sortants du calcium. Dans le compartiment sanguin. Elle est due :

- soit à l'augmentation de l'absorption calcique digestive ;
- soit à une résorption osseuse accrue ;
- soit à une diminution de l'excrétion rénale du calcium. (Ces mécanismes sont souvent associés).

➤ Causes

Les étiologies des hypercalcémies sont représentées à 45 % par les hyperparathyroïdies et à 45 % par les hypercalcémies d'origine néoplasique. Les autres causes multiples et rares ne représentent que 10 % des hypercalcémies (Intoxication par la vitamine D - Troubles granulomateux- Immobilisation- syndrome de Burnett). (Guitton *et al.*, 2002)

IV.1.2 Trouble de phosphore

A .Hypophosphatémie

L'hypophosphatémie se définit donc comme un taux de phosphate sanguin inférieur à 0,8 mmol/l. De 0,8 à 0,6 mmol/l, il s'agit d'une hypophosphatémie légère. De 0,6 à 0,3 mmol/l, elle est qualifiée de modérée. L'hypophosphatémie est considérée comme sévère en-dessous de 0,3 mmol/l. Elle peut être symptomatique dès qu'elle atteint des taux inférieurs à 0,5 mmol/l. (Huart *et al.*, 2015).

➤ **Causes**

Selon **Padelli et al., (2017)** Les causes principales d'hypophosphatémie sont :

- Dénutrition
- Malabsorption intestinale
- Diarrhée/vomissement
- Hypovitaminose D
- Infection
- Intoxication alcoolique
- État postopératoire
- Traumatisme
- Hyperparathyroïdie
- Acidose sanguine.

B .Hyperphosphatémie

- Une hyperphosphatémie correspond à un phosphate sérique (PO_4) $> 4,5 \text{ mg/dL}$ ($> 1,46 \text{ mmol/L}$).
- L'hyperPi est la conséquence d'apports excessifs et d'une diminution de la capacité du rein à éliminer le Pi.
- Un hyperPi se rencontre dans l'hyperPTH et dans l'insuffisance rénale.
- La cause habituelle de l'hyperphosphatémie est une insuffisance rénale avancée; la pseudohypoparathyroïdie et l'hypoparathyroïdie sont des causes moins fréquentes. (**Jane, 2018**).

Chapitre II :

Matériel et méthode

1. Matériel

1.1. Lieu et durée du stage

Cette étude a été réalisée au niveau du laboratoire centrale au sein du service de transplantation des reins au CHU de Blida hôpital Frantz Fanon.

A cause de la pandémie COVID-19 notre stage pratique a été suspendu, après un mois de pratique de février jusqu'à Mars 2020.

1.2. Les objectifs

- 1- Objectif Principale de cette étude est d'étudier l'état phosphocalcique chez des patients souffrants d'insuffisance rénale chroniques et traités par hémodialyse.
- 2- Utilisation des paramètres biochimiques comme critères de diagnostic.
- 3- Expliquer ces variations en prenant compte l'âge, le sexe des patients et les différents stades d'évolution de la maladie, la néphropathie causale et la variation du taux de la PTH et de la vitamine D.
- 4- Discuter l'intérêt de la supplémentation par la vitamine D en cas de carence chez les hémodialysés.

1.3. Population étudié

Notre étude est de type descriptive et analytique Incluant 40 patient hospitalisés atteints d'insuffisance rénale chronique.

2.3.1. Critères d'inclusion

Tous les patients hémodialysés chroniques au sein du centre de reins.

1.3.2. Critères d'exclusion

Exclu de cette étude les patients qui ont refusé de faire le prélèvement sanguin, Patients dont les dossiers sont incomplets (n'ayant pas bénéficié d'un bilan phosphocalcique et dosage de la PTH), Malades hémodialysés pour passer le cap aigue d'une insuffisance rénale aigue.

1.4. Recueil des données

Le recueil des données est fait à l'aide d'une fiche technique individuelle pour chaque malade.

Les données ont été recueillies à partir des dossiers des malades hospitalisés dans le service hémodialyse. Dans chaque dossier ont été relevés :

- Les données sociodémographiques (le sexe, la durée de l'hémodialyse et les jours d'hémodialyse).

Le bilan comprenait les dosages suivants : Urée, créatinine, acide urique, Calcémie, phosphorémie, vitamine D.

2.4. Analyse des données

Nous avons réalisé une étude descriptive et analytique de quelques données épidémiologiques et de paramètres biologiques de la maladie et ses complications qui incluent les moyennes et l'écart type des variables quantitatives comme suite, en utilisant un logiciel Excel 2007 et rédiger par Word 2007.

1.6. Matériels biologiques

Nous avons travaillé avec du sang prélevé des patients atteints d'insuffisance rénale chronique à jeun. Le sang est recueilli dans des tubes secs et héparine, ce dernier est centrifugé à 4000 tours/min pendant 4 min. le sérum / plasma est recueilli.

Le sérum recueilli est stable pendant 24H dans une température ambiante et conservé à (2-8°C) pendant (5-7 jours) et jusqu'à 5 mois à (-20°C).

1.7. Matériels non biologiques

Nous avons utilisé un matériel non biologique composé des appareillages, micropipette, tubes secs, réactifs présentés dans l'annexe 2.

2. Méthodes

2.1 Méthode de prélèvement du sang

Les prélèvements ont été faits sur des patients à jeun, sur trois différents branchements et avec trois différents périodes durant les jours de l'hémodialyse :

- Branchement 01 : 04h-08h.
- Branchement 02 : 08h-12h.
- Branchement 03 : 12h-17h.

Le prélèvement a été réalisé par un personnel qualifié après la séance d'hémodialyse.

Ceux-ci ont été réalisés au niveau de la veine du pli du coude après désinfection alcoolique, le sang est récupéré dans des tubes secs, héparine dont chaque tube porte une étiquette mentionnant le nom et le prénom du patient le sang récupéré est orienté au laboratoire de la biochimie pour doser les paramètres lipidique, rénale et hépatique.

2.5. Méthode de dosage des paramètres biochimiques

Les dosages des paramètres biochimiques ont été effectués par deux différentes marques de réactifs :

→ Dosage de l'urée, créatinine et l'acide urique : Biomaghreb.

→ Dosage de calcium et phosphore : Teco diagnostics.

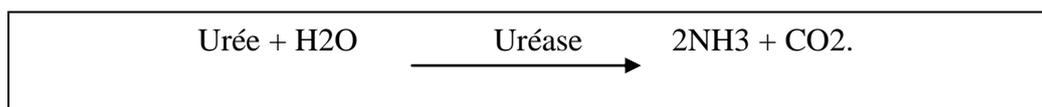
- **Dosage de l'urémie : (méthode Berthelot modifiée ; méthode colorimétrique, Méthode cinétique UV/ Uréase).**

Le dosage s'effectue pour quantifier l'urée dans le plasma humain. Pour la réalisation du dosage, une prise de sang veineux doit être faite à jeun. Le sang est prélevé de préférence sur l'héparine. Il est déconseillé d'utiliser l'héparinate d'ammonium ou le fluorure de sodium car ces derniers inhibent l'Uréase utilisé dans cette technique.

Il est conseillé aussi, d'éviter le traitement des échantillons hémolysés, contaminés ou ayant subi plus d'une décongélation. Généralement, l'urée en échantillon est stable 7 jours à 2-8°C et un an entre -15 et -25°C.

Principe :

Les ions ammonium produits par l'action de l'Uréase réagissent en milieu alcalin en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium en formant un composé de couleur verte (Dicarboxy - lindophenol) dont l'intensité mesurée à 590nm est proportionnelle à la concentration en urée.



Technique :

Tableau II.2. Le mode opératoire de l'urémie

	Blanc	Étalon	Echantillon
Étalon	-	10µl	-
Echantillon	-	-	10µl
Réactif A	1ml	1ml	1ml
Mélanger et incuber 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à 20°-25°C .			
Ajouter ensuite :			
Réactif 04	1 ml	1ml	1ml
Mélanger, incuber 5 min à 37°c ou 10min à 20°-25°C			
Lire contre le blanc			

- Lire et rectifier les absorbances de tous les tubes ; la couleur finale est stable pendant 2 heures à l'abri de la lumière.

Composition de réactif A : fiche technique (annexe 3)

Valeurs de référence :

- Sérum –plasma : 15-40 mg/dl
0.15-0.4 g/l
2.49-6.66mmol/l
- Urine : 20-35 g/24h

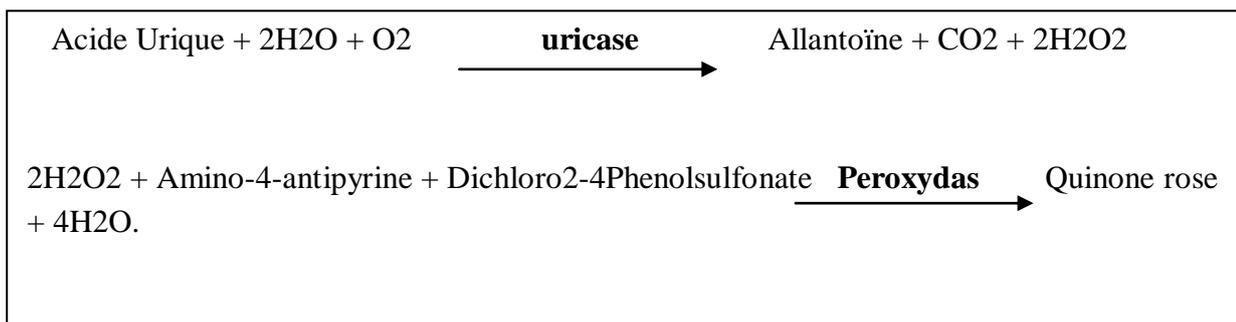
La concentration de l'urée dans le sang augmente avec l'âge, ainsi après 50 ans une urémie à 8 mmol/L n'est pas considérée comme pathologique. Chez la femme l'urémie est inférieure de 25 % à celle de l'homme.

• **Dosage de l'acide urique (uricémie): (méthode colorimétrique, Uricase-PAP).**

Le dosage s'effectue pour quantifier l'acide urique dans le plasma humain. Pour la réalisation du dosage, une prise de sang veineux doit être faite à jeun. Le sang est prélevé de préférence sur l'héparine. L'acide urique en échantillon est stable 5 jours à 2-8°C ou 06 mois entre -15 et -25°C.

Principe :

La détermination de l'acide urique par la méthode enzymatique se fait selon les réactions suivantes :



L'intensité de la coloration rouge développée est proportionnelle à la concentration en acide urique, elle est mesurée par photométrie à 510 nm.

Technique :

Tableau II.3. Le mode opératoire de l'acide urique

	Blanc	Étalon	Échantillon
Étalon	-	20µl	-
Échantillon	-	-	20µl
Réactif	1 ml	1 ml	1 ml
Mélanger et lire les DO après une incubation de 5 minutes à 37°C ou 10 minutes à 20°C - 25°C. la couleur finale est stable pendant 2 heures à l'abri de la lumière.			

Composition de réactif de travail : fiche technique (annexe 3)

Valeurs de référence :

- Sérum –plasma : **Femmes** : 2.5-6.0 mg/dl
25-60 g/l
148-357µmol/l
- Hommes** : 3.4-7.0 mg/dl
34-70 g/l
200-416 µmol/l

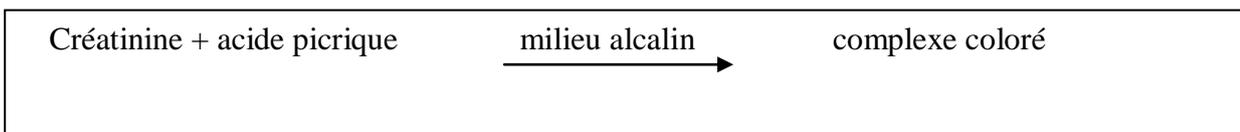
- Urine : 250-750 mg/24h

- **Dosage de la créatinémie: (Méthode cinétique colorimétrique sans déprotéinisation).**

Le dosage s’effectue pour quantifier la créatinine dans le plasma humain. Pour la réalisation du dosage, une prise de sang veineux doit être faite à jeun et de préférence le patient doit éviter tout effort important avant le recueil. Le sang est prélevé de préférence sur un des anticoagulants suivants : l’héparine, l’EDTA

Principe :

La créatinine forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l’acide picrique. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine dans l’échantillon.



Technique :

Tableau II.4. Le mode opératoire de la créatinémie

	Etalon	Echantillon
Etalon	100µl	-
Echantillon	-	100µl
Réactif	1ml	1ml
Mélanger et lire les densités optiques DO1 après 30 sec. Lire ensuite DO2 exactement 1 minute après.		

Composition de réactif : fiche technique (annexe 3).

Valeurs de référence :

- Sérum –plasma : 0.7-1.4 mg/dl
7-14 g/l
61.8-132.6 $\mu\text{mol/l}$
- Urine : 15-25 mg/kg/24h

- **Dosage de la calcémie : (méthode colorimétrique ; calcium-Crésophtaléine/UV).**

Le calcium est dosé dans le sérum, plasma ou dans l'urine. Les méthodes de dosage sont essentiellement colorimétriques.

La calcémie est réalisée chez un sujet à jeun depuis 8 heures environ. Il est conseillé d'éviter de traiter les échantillons hémolysés, contaminés ou ayant subi plus d'une décongélation. Le plasma est prélevé de préférence sur héparinate de lithium, il faut éviter l'EDTA car il complexe le calcium. Le calcium reste stable dans le sérum : 10 jours à 2-8°C ou 03 mois à -20°C.

Principe :

Le calcium réagit avec la crésophtaléine dans la 8-hydroxyquinoléine pour former un complexe coloré (couleur violette). L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de calcium

Calcium + O-crésophtaléine complexone $\xrightarrow{\text{milieu alcalin}}$ complexe calcium-Crésophtaléine complexone

Technique :

- Transfert de 1 ml de réactif de travail dans chaque tube.
- Ajouter 0,02 ml (20 μl) d'échantillon dans les tubes respectifs et mélanger.
- Laisser reposer pendant au moins 60 secondes à température ambiante.
- Spectrophotomètre à zéro avec blanc à 570 nm de longueur d'onde 550-600 nm.
- Lire et rectifier les absorbances de tous les tubes ; la couleur finale est stable pendant vingt minutes 20.

Composition de réactif : fiche technique (annexe 3).

Valeurs de référence :

- 82-102 mg/dl

On peut noter une légère augmentation post-prandiale et une diminution chez la femme enceinte et lors de l'allaitement.

- **dosage de phosphorémie : (méthode colorimétrique ; Phosphomolybdate/UV)**

Le phosphore est dosé dans le sérum, plasma ou dans l'urine. Les méthodes de dosage sont essentiellement colorimétriques.

Le dosage du phosphore inorganique est réalisé chez un sujet à jeun depuis 8 heures environ. Il est conseillé d'éviter de traiter les échantillons hémolysés, contaminés ou ayant subi plus d'une décongélation.

Le sang est prélevé sur l'héparinate. Il faut signaler toute médication à base de phosphore. Le phosphore reste stable dans le sérum : 07 jours à 2-8°C.

Principe :

Dans un milieu fortement acide le phosphore inorganique réagit avec le molybdate d'ammonium pour former un complexe de phosphomolybdate, ce complexe est réduit par du sulfate d'ammonium ferreux pour produire le complexe bleu de molybdène son intensité est directement proportionnelle à la concentration de phosphore présent.



Technique :

- transférer 1 ml de réactif dans chaque tube. laisser à température ambiante (25°C)
- transférer 0,02 ml (20ul) d'échantillon dans les tubes respectifs et mélanger par inversion.
- laisser les tubes reposer pendant au moins 10 minutes.
- mettre à zéro le spectrophotomètre à 675 nm avec le blanc de réactif.
- lire et enregistrer les absorbances de tous les tubes.

Composition de réactif : fiche technique (annexe 3)

Valeurs de référence :

- Adultes : 2.5-5.0 mg / dl.
- Enfants : 4.0-7.0 mg / dl.

La phosphorémie varie de façon importante en fonction de l'apport nutritionnel. Elle reste constante chez l'homme et diminue modérément chez la femme.

- **Dosage de la vitamine D: (Technique d'Elisa pour le dosage quantitative de la 25-OH).**

Le dosage s'effectue pour quantifier le taux vitamine D dans le sérum humain. Pour la réalisation du dosage, une prise de sang veineux doit être faite à jeun. Le sang est prélevé de préférence sur des tubes secs.

Il est conseillé aussi, d'éviter le traitement des échantillons hémolysés, contaminés ou ayant subi plus d'une décongélation.

Principe :

Le dosage ELISA 25-OH-vitamine D est un essai immunoenzymatique en phase solide réalisé sur des plaques de microtitration et destiné à l'usage professionnelle. Une première incubation se fait à température ambiante. Durant cette étape la vitamine D 25-OH totale (D2-D3) présente dans les calibrateurs, les contrôles et les échantillons est libérée de sa liaison aux protéines de liaison de sérum et se fixe sur les sites de fixation d'un anticorps monoclonale spécifique. Après une étape de lavage une quantité déterminé de vitamine D marqué a la biotine entre en compétition avec les vitamines D2 et D3 non marqués présentes pour les sites de liaison de l'anticorps monoclonale spécifique, en présence de streptavidine et peroxydase de raifort (HRP). Après incubation à température ambiante, la plaque de microtitration est lavée a fin d'arrêter la réaction de compétition. Le substrat est ajouter et incubé. La réaction chromogène est arrêter avec l'addition de la solution d'arrêt et la couleur vire du bleu a jaune. Puis, la plaque de microtitration est lue à la longueur d'ondes appropriée (450nm). La quantité du produit de réaction est déterminée colorimétriquement. Une courbe de calibration est tracée et les concentrations en vitamine D totale des échantillons sont déterminées par interpolation de la concentration sur la courbe de calibration.

Technique :

Tableau II.5. Mode opératoire de la vitamine D

Avant l'utilisation ramener les réactifs et les échantillons à la température ambiante		
Phase 1		
Puits (µl)		
	A1...f2	G1....
Cal(0), Cal(1) à Cal(5) en double	25	-
Echantillons, contrôles ; en double	-	25
Incubation buffer (tampon d'incubation)	75	75
Incuber 60 minutes à 20°-25°C sur un agitateur.		
Préparer HRP lors de l'incubation de l'échantillon (au moins 45min avant l'usage)		
Laver 3 fois		
Wash (tampon de lavage)	350	350
Phase 2		
HRP	100	100
Incuber 15 min à 20-25°C sur un agitateur		
Laver 3 fois		
Wash (tampon de lavage)	350	350
Phase 3 (en l'espace de 15 min après lavage 3)		
Substrat	100	100
Incuber 15 min à 20-25°C sur un agitateur		
Stop (solution d'arrêt)	100	100
- Lire et rectifier les absorbances à 450 nm (filtre de référence 630nmou 650nm) en l'espace de 60 min		

Composition de réactif A : fiche technique (annexe 3).

Valeurs de référence :

Tableau II.6. Valeurs de références de la vitamine D.

Status en vitamine D	Valeurs attendus
Carence	<10ng/ml
Insuffisance	10-29ng/ml
Normale	30-100ng/ml
Toxicité	>100ng/ml

Chapitre 03 :

Résultats et discussion

A cause des circonstances que nous avons traversées, nous n'avons pas pu terminer notre stage au centre de reins, et donc nous n'avons pas pu recueillir assez de données des patients, c'est pour cela que nous comptons sur quelques résultats que nous avons obtenu et représenté comme suit:

1. Répartition des patients selon le sexe

Nous avons 40 patients hémodialysés atteints d'insuffisance rénale chronique pour notre échantillon, subdivisés en 22 hommes représentant (55%) du nombre totale des patients et 18 femmes représentant (45%) comme figuré dans l'histogramme suivante :

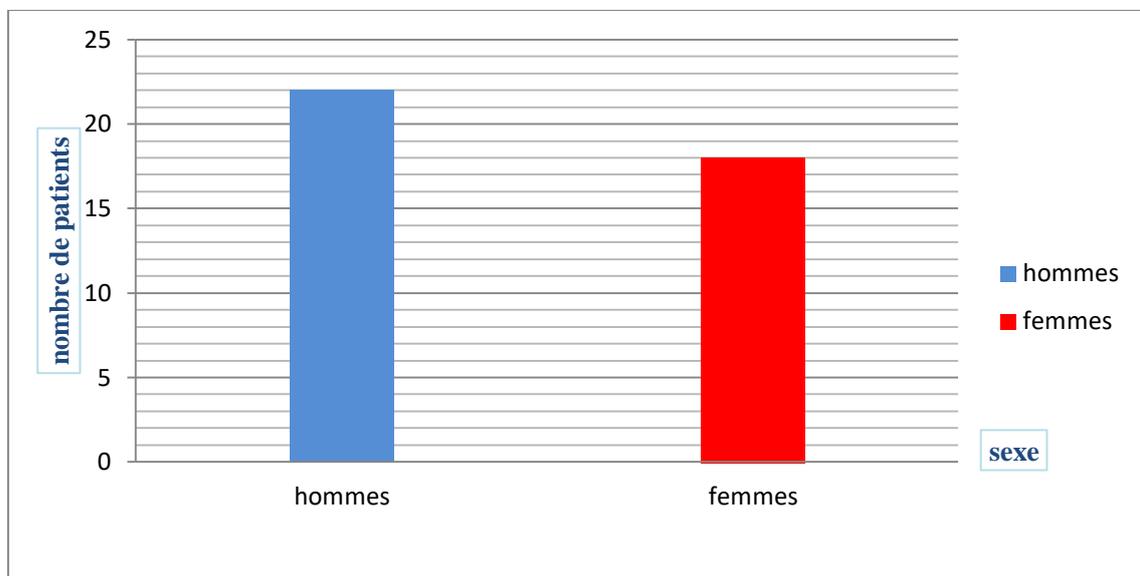


Figure III.16 : la répartition des patients selon le sexe

D'après notre résultat montré ci-dessus on observe que la maladie est plus fréquente chez les hommes que chez les femmes avec un sexe ratio de 1,48. Cela montre que les femmes semblent plus protégées face à l'IRC que les hommes grâce à l'hormone d'œstrogène endogène qui à un effet protecteur, à une hémodynamique rénale plus favorable et une meilleure capacité de renouvellement des cellules tubulaires. (Mehier *et al.*, 2017).

D'après (Benabdellah *et al.*, 2012) une étude réalisée au niveau de l'hôpital Al farabi CHU Oujda au Maroc, ils ont trouvé un sexe ratio de 1,06(34H/32F).

Ces valeurs sont très proches à celles citées dans l'étude réalisée par le même auteur (Benabdellah, 2013) et ses collaborateurs qui ont trouvé un sexe ratio de 1,10(42H/38F).

Une étude menée dans le service Néphrologue_ Hémodialyse au CHU Mohammed VI, Oujda, Maroc faite par (EL Habil ,2017) et ses collaborateurs ont trouvé un sexe ratio de **1,04** (51H/49F).

Une autre étude réalisée par (Samaké *et al.*, 2019) au Mali, ils ont trouvé un sexe ratio respectivement de **1,36** et **1,13**.

2. Variation des paramètres biochimiques

2.1 .variation de l'urée

Nous avons 40 patients hémodialysés atteints d'insuffisance rénale chronique pour notre échantillon. Avec une moyenne d'urémie calculée de 0,979 g/l avec un écart type de 0,59.

La concentration de l'urée chez les patients hémodialysés est représentée dans l'histogramme suivant :

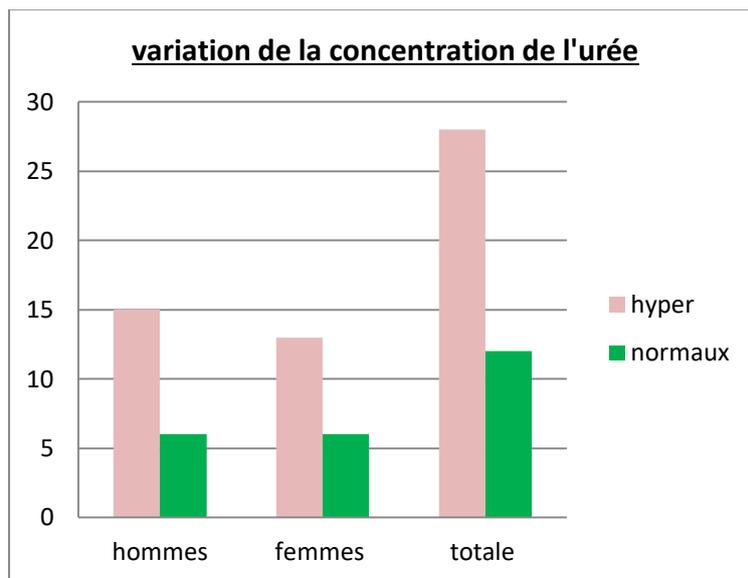


Figure III.17: Représentation des variations de la concentration de l'urée

D'après cette figure nous avons remarqué un taux d'urémie élevé chez la majorité des patients atteints d'insuffisance rénale chronique (**70%**) (Hyperurémie) dont **54%** Hommes et **46%** Femmes alors que **30%** patients ont un taux normal d'urée.

Ces résultats sont concordés avec plusieurs études parmi lesquelles l'étude réalisée par (Manuelle, 2008) en France qui trouve une valeur d'urémie similaire, un autre résultats de

(Bouattar *et al.*, 2009) au Maroc qui trouve une moyenne de 0.684 ± 25 g/l dans leur population et montre que L'hyperurémie est considérée comme un marqueur de dysfonctionnement rénal plutôt qu'un facteur de risque de progression de l'atteinte rénale.

Les résultats ont montrés que le taux d'urée a augmenté proportionnellement avec le degré de l'atteinte rénale. Il est évident qu'une augmentation de l'urée sanguine traduit un déficit de la fonction d'excrétion des reins (Richet, 2005). Plus la fonction rénale est altérée plus l'urée s'accumule dans le sang et devient un facteur toxique (Vanholder, 2003). Selon Dussol *et al.*, (2011), le dosage de l'urée sanguine est moins précis pour évaluer la fonction rénale que celui de la créatinine et doit donc être abandonné.

2.2. Variation de Créatinine

Nous avons 40 patients hémodialysés atteints d'insuffisance rénale chronique pour notre échantillon. Avec une moyenne de créatinémie calculée de 58.5 g/l avec un écart type de 28,80.

La variation de la concentration de la créatinine chez les patients hémodialysés est représentée dans l'histogramme suivant :

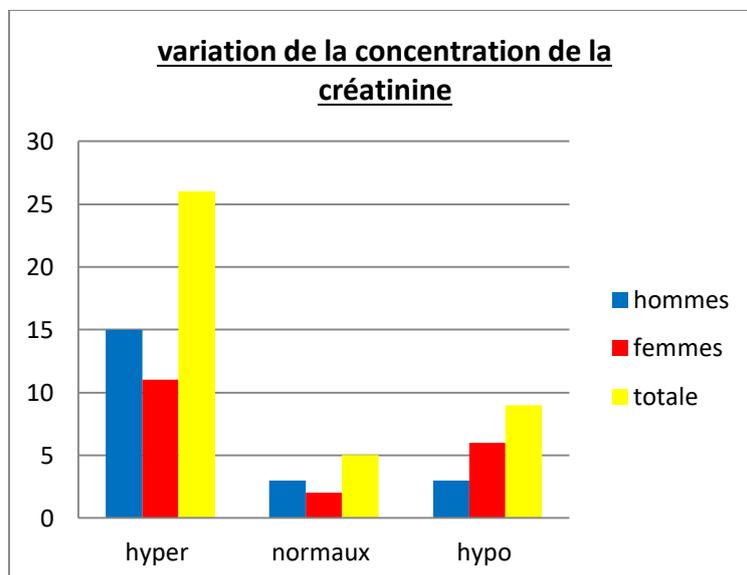


Figure III.18 : Représentation des variations de la concentration de la créatinine

Les résultats obtenues d'après l'étude de notre population a montrer que le taux de la créatinine est élevée chez la majorité des patients hémodialysés (65%) et chez les deux sexes

(masculin et féminin) ; le sexe qui enregistre le taux de créatinine le plus élevé est le sexe masculin (54%) par rapport aux féminin (46%).

D'après Les résultats obtenus dans notre population d'étude, on a remarqué qu'ils sont compatible avec plusieurs études parmi lesquelles l'étude de (Bouattar *et al.*, 2009) au Maroc, qui a montrer et trouver des concentrations plasmatiques élevées de la créatinine ce qui montre que la population malade est exposée au risque d'insuffisance rénale. D'après Meyrier *et al.*, (1994) , l'augmentation du taux de la créatinine suit la diminution de DFG constituant l'élément biologique essentiel pour juger l'importance du déficit de fonctionnement rénale.

2.3. Variation de l'acide urique

Nous avons 40 patients hémodialysés atteints d'insuffisance rénale chronique pour notre échantillon. La moyenne d'uricémie calculée de 58.9g/l avec un écart type de 29,25.

La variation dans la concentration de la créatinine chez les patients hémodialysé est représentée dans l'histogramme suivant :

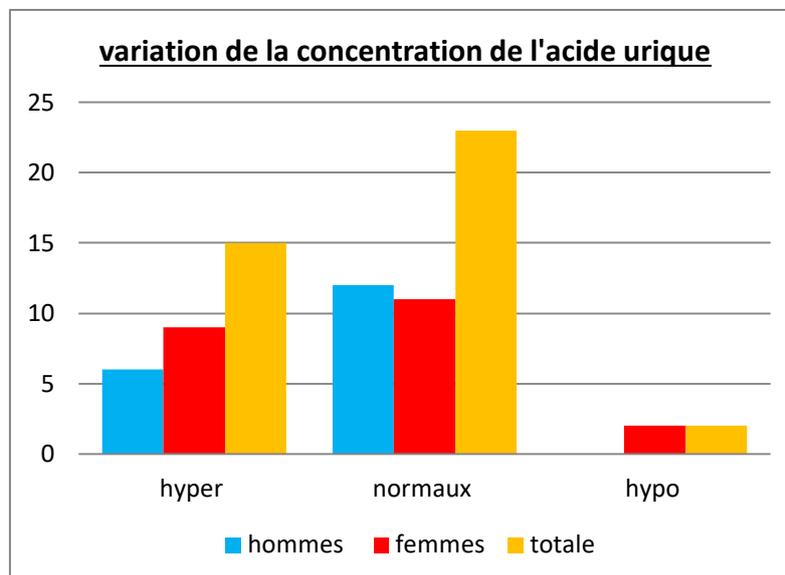


Figure III.19 : Représentation de la variation du taux de l'acide urique.

D'après les résultats obtenus de notre étude on observe une élévation d'uricémie chez (37.5%) des patients atteints d'insuffisance rénale chronique (Hyperuricémie) dont 60%

Hommes et 40% Femmes alors que 57.5% des patients ont un taux normal d'acide urique (52% hommes et 48% femmes) aussi que 5% des patients une hypo-uricémie.

Ces résultats sont proches de ceux trouvés par **Bouattar *et al.*, (2009)** où ils ont enregistré un taux moyen égal à $47 \pm 12,3$ mg/L chez le groupe de diabétiques sans complications, et 76 ± 24 mg/L chez les cas d'insuffisance rénale (**Bouattar *et al.*, 2009**).

Selon **Bellomo *et al.*, (2010)**. Chaque augmentation de l'acide urique de 10 mg/l ($59 \mu\text{mol/l}$) était associée à 23 % de sur-risque de baisse du DFG > 2 ml/min/an. L'hyperuricémie est liée à un déclin plus rapide de la fonction rénale résiduelle et une augmentation de la dysfonction endothéliale. (**Izzedine et Deray, 2011**).

Des valeurs sériques élevées de la créatinine, de l'urée et de l'acide urique, témoignant de l'aggravation de l'IRC qui s'accompagne d'une diminution de l'excrétion urinaire des déchets azotés. (**Kharoubi et Benglia, 2015**).

2.4. Variation de calcium

- Nous avons 40 patients hémodialysés atteints d'insuffisance rénale chronique pour notre échantillon.
- La moyenne de calcium calculée est de 79.47 mg/l avec un écart type de 10,44.

Au total de des patients, environ 58% ont un taux de calcium bas (hypocalcémie) alors que 43% des patients ont un taux normal de calcium.

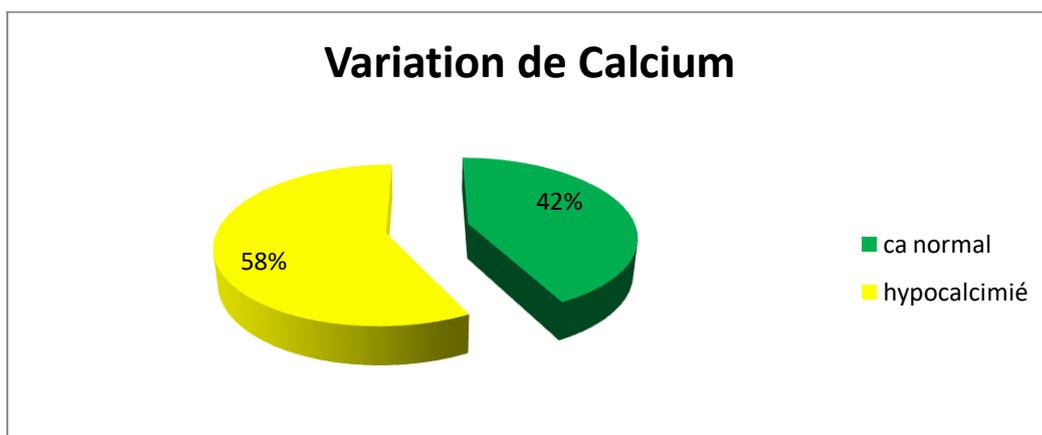


Figure III.20: représentation des variations de la concentration de calcium

Cette hypocalcémie observée au cour de IRC est expliqué par la diminution de la filtration glomérulaire au-dessous de 20 ml/min (**Mondé *et al.*, 2013**).

Chez les patients insuffisants rénaux, le calcium n'est plus résorbé correctement par les reins et les quantités de 1-25 vitamines D synthétisées sont insuffisantes (ce qui entraîne de surcroît une diminution de l'absorption intestinale du calcium). (**Bock *et al.*,2005**).

Une étude réalisée par (**Kharoubi et Benglia ,2015**) l'ouest d'Algérie (Oran, Mostaganem, Ain Témouchent,...) trouvent qu'environ 27% des patients ont une valeur normale de calcium avec une moyenne de $94\pm 3.49\text{mg/l}$ et environ 41% des patients ont une hypocalcémie avec une moyenne de $76.45\pm 8.88\text{mg/l}$.

Notre résultats est plus au moins proche de l'étude réalisée au centre d'hémodialyse de l'hôpital Al Farabi d'Oujda, dans l'Oriental Marocain qui trouvent une moyenne de calcium de $2.06\pm 0.4\text{mmol/l}$ soit ($82.56\pm 16\text{mg/l}$) (**Benabdellah *et al.*,2013**).

Une autre étude a été menée dans le service Néphrologie, CHU Mohammed VI, Oujda, Maroc en 2017 obtient une moyenne de calcium de $85\pm 10\text{mg/ml}$ (**El Habil *et al.*,2017**).

Une étude a été faite en 2011 Service d'hémodialyse, hôpitaux Drôme Nord (Hdn), Romans-sur-Isère, France trouvent une moyenne de calcium de $2.21\pm 0.37\text{mmol/l}$ soit ($88.57\pm 14\text{mg/l}$) . (**Elouazzani *et al.*,2011**).

2.5. Variation de phosphore

- Nous avons 40 patients hémodialysés atteints d'insuffisance rénale chronique pour notre échantillon.
- La moyenne de phosphore calculée est de 51,8 mg/l avec un écart type de 20,23.
- La concentration de phosphore chez les patients hémodialysés est présentée dans le secteur suivant :

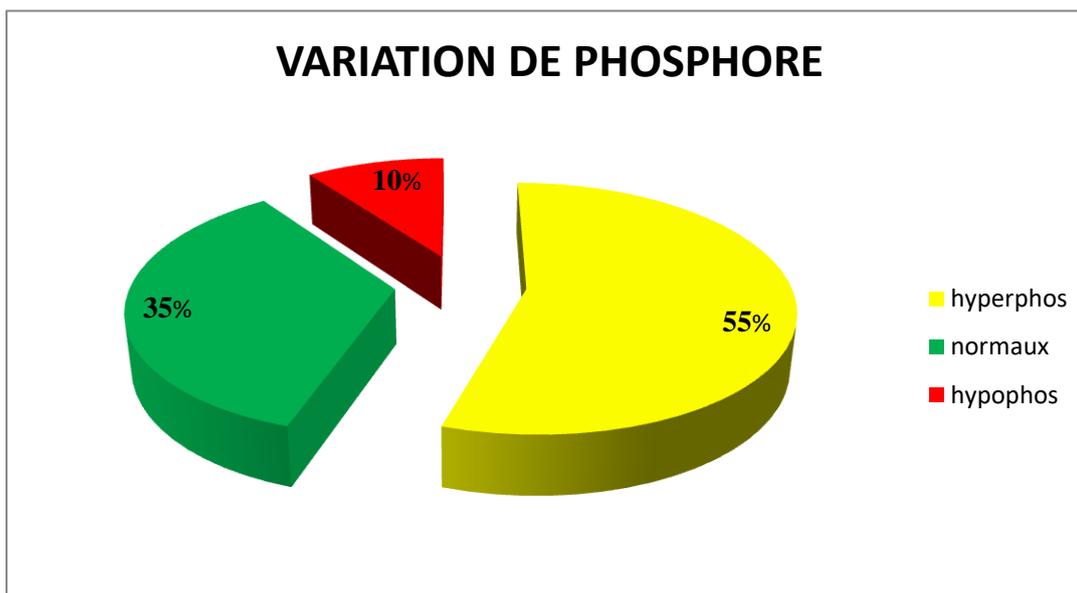


Figure III.21 : représentation des variations de la concentration de phosphore.

D'après cette figure nous avons remarqué que la majorité des patients atteints d'insuffisance rénale chronique (55%) ont un taux de phosphore élevé (hyperphosphatémie) (59% Hommes et 41% Femmes) alors que 35% des patients ont un taux normal de phosphore (57% Hommes et 43% Femmes), environ 10% ont un taux de phosphore bas (hypophosphatémie).

L'hyperphosphatémie est très fréquente au stade de la dialyse, favorisée par l'apport alimentaire et l'extraction insuffisante réalisée à chaque hémodialyse. **(Delanaye et KRZESINSK, 2005)**.

L'hyperphosphatémie concerne surtout les patients aux stades 5 et 5D de la maladie rénale chronique. Elle témoigne de l'incapacité de la fonction rénale ou de la dialyse à épurier le phosphore alimentaire. **(Jeanet Chazot, 2019)**.

Une étude a été faite en 2011 Service d'hémodialyse, hôpitaux Drôme Nord (Hdn), Romans-sur-Isère, France trouve une moyenne de phosphore de 1.45 ± 0.52 mmol/l soit $(44,89 \pm 16,1$ mg/l). **(Elouzzani, 2011)**.

Une autre étude faite au centre d'hémodialyse de l'hôpital Al Farabi d'Oujda, dans l'Oriental Marocain trouve la moyenne de phosphore $1,16 \pm 0,44$ mmol/l soit $(35,91 \pm 13,62$ mg/l). **(Benabdellah et al., 2013)**.

Une autre étude menée dans le service Néphrologie, CHU Mohammed VI, Oujda, Maroc en 2017 obtient une moyenne de phosphore est de $51,2 \pm 17,9$ mg/l. (**El Habil et al., 2017**).

En raison des conditions que nous avons vécues (COVID-19), nous devons renforcer notre étude par certains nombres d'articles pour compléter nos objectifs d'étude.

3. Répartition des patients selon l'âge

Une étude a été considéré comme la première enquête algérienne sur la Prévalence de la maladie rénale chronique chez le sujet âgé trouvent une moyenne d'âge $72,19$ ans \pm 6,23 (**Chiad et al ., 2018**).

Une étude réalisée par (**Kharoubi et Benglia, 2015**) à ouest D'Algérie, ils ont trouvés une homogénéité en ce qui concerne l'âge avec une moyenne d'âge 54ans.

Ces valeurs sont proche à celles cité par l'étude réalisée par (**Benabdellah et al., 2012**) au centre hémodialyse de hôpital Al farabi Oujda, Maroc ont obtenus une moyenne d'âge de 49 ± 15.6 ans.

Une autre étude antérieure réalisée au niveau du service de néphrologie et Hémodialyse du CHU de point G au Mali qui ont trouvé une moyenne d'âge de 48.92 ans. (**Samaké et al, 2019**).

D'après **Chiad, (2018)** et ses collaborateurs, la prévalence de la MRC chez les sujets âgés algérois est très importante.

Passé 40 ans le rein diminue de taille et de volume. En même temps le nombre des néphrons fonctionnels diminue ce qui aboutit, à 80 ans, d'avoir perdu près de 40% de sa fonction rénale. (**Olmer, 2007**).

4. La Répartition des patients selon la néphropathie causale

Une étude réalisée à l'ouest d'Algérie (Oran, Mostaganem, Ain Témouchent,...) en 2015 a trouvé les résultats suivants : (**Kharoubi et Benglia ,2015**).

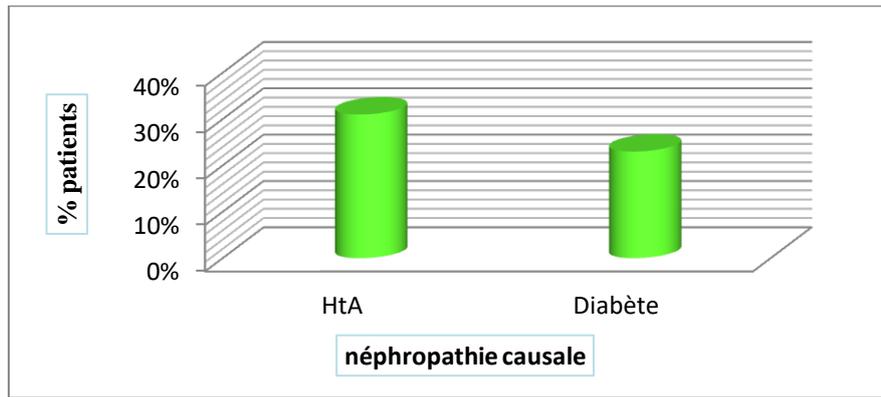


Figure III.22 : Répartition des patients selon la néphropathie causale dans l’ouest d’Algérie. (Kharoubi et Benglia ,2015).

- Ces résultats sont fortement en accord avec ceux trouvés en Martinique en 2012 au service Néphrologie-dialyse, centre hospitalier, Lamentin (Gbaguidi ,2012)

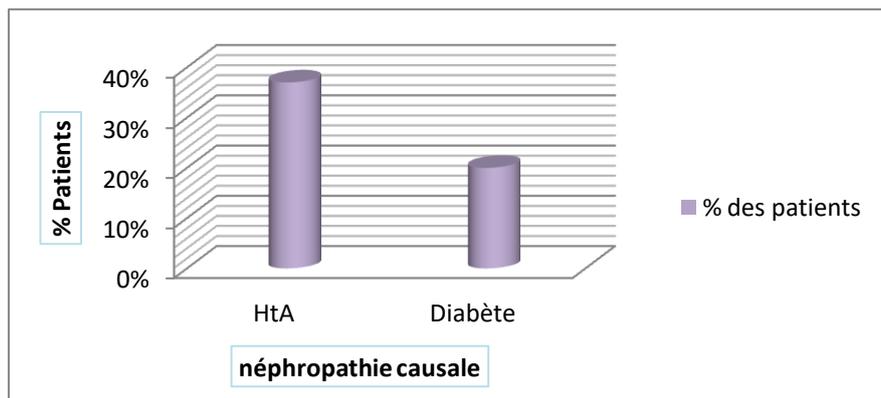


Figure III.23 : Répartition des patients selon la néphropathie causale en Martinique. (Gbaguidi ,2012).

- Des études rapportées à l’Oriental Marocain trouvent une variation selon la cause de l’IRC (Benabdellah ,2013) et (El Habil, 2017).

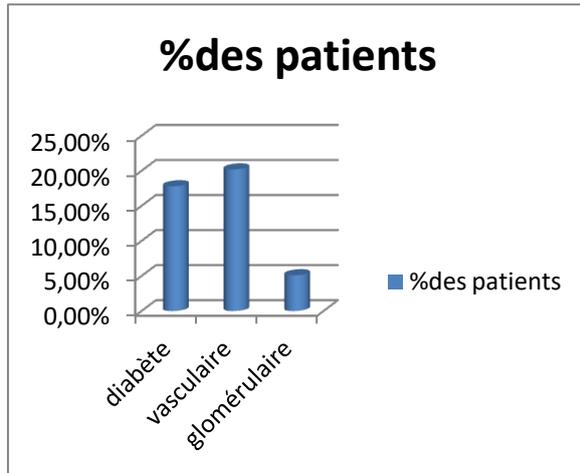


Figure III.24 : répartition des patients selon la néphropathie causale Maroc. (Benabdellah ,2013)

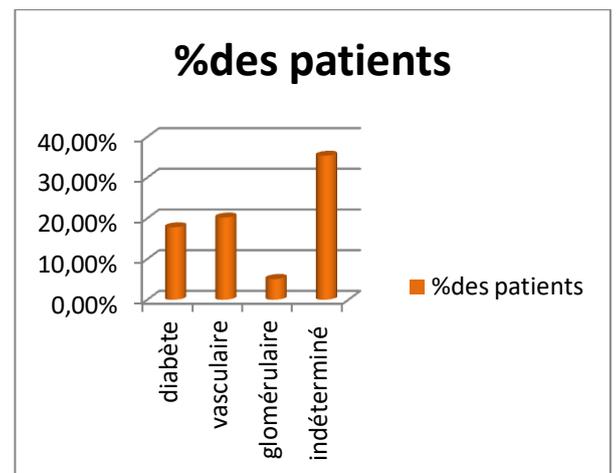


Figure III.25 : répartition des patients selon la néphropathie causale au Maroc. (El Habil, 2017).

D'après ensemble des résultats des différents articles, Il y a des variations des pourcentages en ce qui concerne la néphropathie causale d'IRC.

Selon **Vakilzadeh et al., (2014)** L'hypertension artérielle (HTA) est fréquemment rencontrée chez les patients insuffisants rénaux chroniques, Il existe une association entre le déclin de la fonction rénale et la survenue d'événements cardiovasculaires. Ce risque cardiovasculaire devient plus important dès que le débit de filtration glomérulaire estimée est inférieur à 45 ml/min/1,73 m².

Le diabète est devenu la première cause d'insuffisance rénale chronique au stade terminale dans les pays industrialisés (**villar, 2010**).

D'après **Kherroubi et Benglia, (2015)** Le diabète représente la cause principale d'IRC après l'hypertension en Afrique. L'HTA est un facteur de risque rénal. La prévalence de l'HTA est encore plus élevée chez les insuffisances rénales chroniques, par rapport à la population normale.

5. Variation de PTH

D'après les études faites dans différents parties du monde dont ensembles des résultats sont montré ci-dessous :

1. Une étude faite en 2011 Service d'hémodialyse, hôpitaux Drôme Nord (Hdn), Romans-sur-Isère, France trouvent une moyenne de PTH : 97 ± 219.9 pg/l.. (Elouazzani *et al.*, 2011).

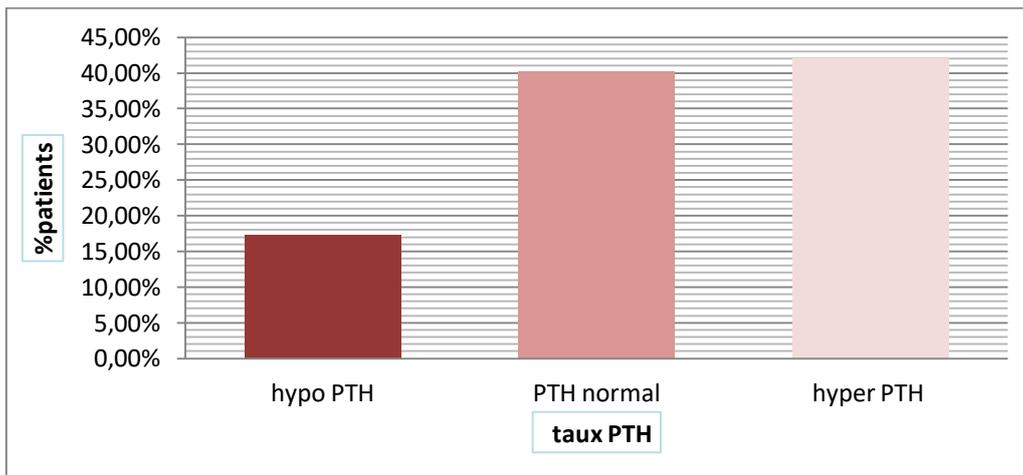


Figure III.26: Répartition des patients selon la variation des concentrations de PTH. (Elouazzani *et al.*, 2011).

2. Une autre a été réalisée au centre d'hémodialyse de l'hôpital Al Farabi d'Oujda, dans l'Oriental Marocain, trouvent une moyenne de PTH de 508 ± 380 pg/l (Benabdellah *et al.*, 2013).
3. Une autre étude a été menée dans le service Néphrologie, CHU Mohammed VI, Oujda, Maroc en 2017 obtient la moyenne de PTH suivante : 251 pg/l (El Habil *et al.*, 2017).

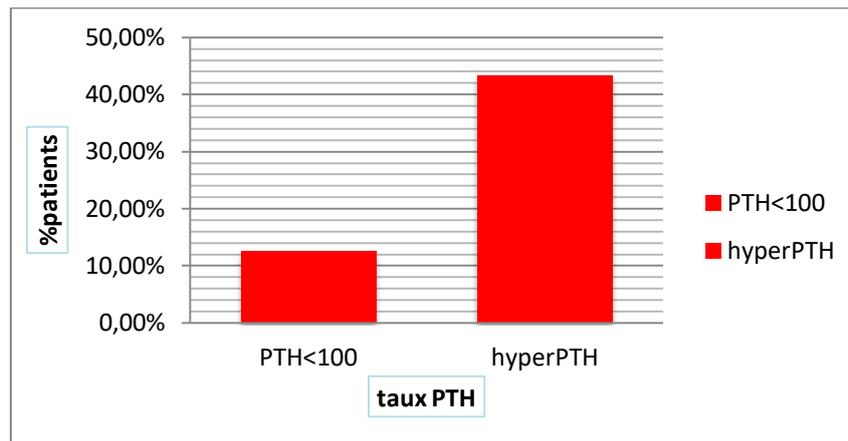


Figure III.27 : Répartition des patients selon la variation des concentrations de PTH. (El Habil *et al.*, 2017).

D'après l'ensemble des résultats des différents articles ; hyperparathyroïdie est très fréquente chez IRC.

Selon **Mondé *et al.*, (2013)** Plusieurs mécanismes pourraient concourir au développement d'une hyperparathyroïdie chez les patients ayant une insuffisance rénale chronique, parmi lesquels :

- la baisse de la concentration plasmatique du calcitriol qui stimule directement la synthèse et la sécrétion de la PTH.
- l'hypocalcémie et l'hyperphosphatémie qui favorisent la sécrétion de PTH indépendamment de l'action du calcitriol.

6. Variation de vitamine D

D'après les études réalisées sur la vitamine D dont l'ensemble des résultats est montré ci-dessous :

Une étude a été faite en 2011 Service d'hémodialyse, hôpitaux Drôme Nord (Hdn), Romans-sur-Isère, France trouve une moyenne de vitamine D est de 61.8 ± 43.5 nmol/l soit 19.43 ± 13.67 ng/ml. (**Elouazzani *et al.*, 2011**). Une autre a été réalisée au centre d'hémodialyse de l'hôpital Al Farabi d'Oujda, dans l'Oriental Marocain trouve la moyenne de vitamine D 87 ± 5.66 nmol/l soit 27.35 ± 1.77 ng/ml. (**Benabdellah *et al.*, 2013**). Une autre étude a été menée dans le service Néphrologie, CHU Mohammed VI, Oujda, Maroc en 2017 obtient une moyenne de vitamine D 32.4 ± 15.3 ng/ml. Parmi les patients, 41,2 % avaient une

insuffisance en vit D. (**El Habil *et al.*, 2017**) Une étude a été menée dans Service de Néphrologie et d'Hémodialyse du CHU du Point G. Mali trouvent que la vitamine D était basse dans 53.9% de patients. (**Samaké *et al.*, 2019**). Ces derniers résultats sont en accord avec l'étude réalisée par (**Lardi *et al.*, 2011**) et ces collaborateurs en France qui trouvent une moyenne de vitamine D est de 24,1 ng/ml avec 70 % des patients ayant un taux de 25 OH sérique < 30 ng/m.

Au cours de la maladie rénale chronique, la carence en vitamine D est très fréquente. Elle a été associée à la progression de la maladie rénale chronique, aux calcifications cardiovasculaires, à la rigidité artérielle, aux événements cardiovasculaires et à la mortalité.

(Jean et Chazot, 2018).

Selon **Mondé *et al.*, (2013)** la synthèse de calcitriol s'abaisse au cours de l'insuffisance rénale chronique dès que la filtration glomérulaire diminue au-dessous de 60 ml/min.

7. Supplémentation en vitamine D

Le **tableau III.13** ci dessous représente les résultats des principales études interventionnelles, qui ont été publiées. L’ergocalciférol ou le cholécalciférol étaient utilisés sur des périodes variables et avec des protocoles très différents :

Tableau III.7. Quelques résultats des études sur la supplémentation en vitamine D chez les patients atteint d’IRC. (**Delanaye et al., 2014**).

Etude / Année	Région	Valeur initial de la vitamine D	Valeur initiale de la PTH	Traitement prescrit	Durée de l’étude	Résultats principaux (après le traitement)
Jean et al., 2008	France	12 ±9 ng/ml	235± 186 pg/ml	Calcifédiol: 400 U/J si 25(OH) vitamine D entre 20 et 30 ng/ml 400 à 800 U/J si 25(OH) vitamine D entre 10 et 20 ng/ml 800 a` 1200 U/J si 25(OH) vitamine D <10	6 mois	Vit D=50± 19 ng/mL PTH=189± 146 pg/mL
Delanaye et al., 2013	Belgique	12± 5 ng/ml	312 (206– 447) pg/ml	Cholécalciférol 25 000 U/15 jours	1 an	Vit D = 35 ng/mL PTH=175 pg/mL
Matias et al., 2010	Portugal	22± 12 ng/ml	233 pg/ml	Cholécalciférol 50 000 U par semaine si 25(OH)D 30 ng/ml	1 an	Vit D= 42± 12 ng/mL PTH=200 pg/mL

D’après l’ensemble de résultats des études ; supplémentation par vitamine D permet d’augmenter les concentrations sériques de vitamine D (25OH) et de diminuer le taux de PTH et également la gravité et la fréquence en HPTII.

La supplémentation en vitamine D était efficace pour augmenter le 25-D sérique (moyenne : +24 ng/ml), diminuer la PTH (-41 %) sans augmentation significative de la calcémie et de la phosphatémie. **(Jean et Chazot, 2015)**

Le but d'un traitement par vitamine D en situation de MRC est bien entendu de substituer le déficit observé, et de prévenir ou de traiter l'hyperparathyroïdie et ses conséquences néfastes, notamment pour l'os. **(Delanaye *et al.*, 2014).**

Conclusion

Conclusion

L'IRC représente un vrai problème de santé publique nécessitant une prise en charge globale faisant intervenir l'ensemble des acteurs de la santé publique. Malheureusement, peu de données existent en Algérie concernant l'épidémiologie de l'IRC vu l'absence d'un registre national.

Les troubles phosphocalciques constituent l'une des complications majeures et fréquentes de l'insuffisance rénale chronique, surtout au stade sévère et terminale. En conséquence il faudra informer le patient sur l'intérêt d'une alimentation bien équilibrée en calcium, en phosphore.

Les perturbations métaboliques observées dans la présente étude nous amènent à proposer le dosage systématique de l'urémie, la créatinémie, l'uricémie, la calcémie, de la phosphorémie, la parathormone et de la vitamine D dans le bilan biologique de tout sujet atteint d'IRC.

Au cours de l'IRC, la carence en vitamine D est très fréquente, La principale conséquence de ces carences est l'HPTS dont la supplémentation en vitamine D et des apports calciques paraît logique et bien tolérée chez les patients dialysés si l'on utilise des doses raisonnables et au prix d'une surveillance régulière visant à éviter l'apparition d'une toxicité, essentiellement une hypercalcémie et dans une moindre mesure une hyperphosphatémie.

Il reste donc encore beaucoup de questions sans réponse concernant notamment les indications des dosages de vitamine D (25-D et 1,25-D) et l'impact de la prescription de ses dérivés sur la morbi-mortalité des patients insuffisants rénaux.

Il serait souhaitable de créer un institut des maladies de reins qui permettrait de développer la recherche en matière de prévention de l'insuffisance rénale et de maintenir un traitement de qualité de cette pathologie même sous des contraintes économiques difficiles.

Il est clair que notre étude doit être complétée par d'autres recherches (dérivés de la vitamine D) en se basant sur les bonnes pratiques et les recommandations internationales.

Références bibliographique

A

- Anglicheau D., Canaud G., Loupy A., Zuber J., Delville M., Rabate C., Tinel C., Scemla A., Snanoudj R., Sberro-Soussan R., Mamzer-Bruneel M-F., Bererhi L., Martinez F., Timsit M-O., Rabant M., Correas J-M., Bienaimé F., Duong J.-P., Hélénon O., Prié D., Méjean A. , Legendre C. (2015). Transplantation rénale : Réalisation et suivi précoce . *Néphrologie* ,28(1),1-15.
- Anthony A-K., 2017 . Le rein : *Série Guide d'apprentissage*. P20 ,21 ,22 ,23 ,34. Disponible sur : <https://www.corelaboratory.abbott/int/en/home>.

B

- Baudin B. (2013). L'exploration du rein en 2013. *Revue francophone des laboratoires*, 2013(451), pp.39-53.
- Bellomo G, Venanzi S, Verdura C, et al (2010). Association of uric acid with changes in kidney function in healthy normotensive individuals. *Am J Kidney Dis*;56:264-72.
- Benabdellah N., El Harraqui R., Karimi I., Khanfri N., Bentata Y., Haddiya I. (2012). Troubles du métabolisme minéral et osseux dans une population d'hémodialysés chroniques: évaluation de l'adhésion aux recommandations KDIGO et K/DOQI. *Néphrologie & Thérapeutique*, 5(8), 318.
- Benabdellah N., Karimi I., Bentata Y., Yacoubi H., Haddiya I. (2014). Statut phosphocalcique en hémodialyse chronique dans l'Orient Marocain: évaluation de l'adhésion aux recommandations K/DOQI et KDIGO. *Pan African Medical Journal*, 16(1).
- Bock A., Keusch G., Kress P., Martin P. (2005). *Le problème phosphocalcique de l'insuffisance rénale chronique. Nouvelles possibilités thérapeutiques en Suisse*. Paper presented at the Swiss Medical Forum.

Références bibliographiques

- Boulanger H., Ahriz Saksi S., Chhuy F., Flamant M. (2014). Hypocalcémie. *EMC-traité de Médecine Akos*, 9(1), 1-7.
- Boulanger H., Flamant M. (2011). Hyperphosphatémie. *EMC- Traité de médecine AKOS*, 14(4), 1-5.
- Bouattar, Tarik, et al. "Les facteurs de progression de la néphropathie diabétique: prise en charge et évolution." *Néphrologie & thérapeutique* 5.3 (2009): 181-187.

C

- Canaud B. ,Chenine H.,Leray-Moraguès J-P.(2016) principe et modalité d'application de l'hémodialyse au traitement de l'insuffisance rénale chronique. *Cristol Néphrologie*,28(4).1-25.
- Canaud B., Daubin D., Chenine L., Morena M., Leray-Moragues, H. (2013). Place et utilisation de la dialyse péritonéale dans le traitement de l'insuffisance rénale chronique terminale. *EMC-Néphrologie*, 26(1)1-17.
- Catizone L., 1999. *Guide de dialyse* ,springer,France, P 19.
- Chassard D., Fuzier V., Mercier F. J.,2015. *Prise en charge des maladies rares en anesthésie et analgésie obstétricales*, Elsevier Health Sciences ,France.P 382.
- Chiad M., Boulahia Y., Djabellah A., Ararem I., Aouni A., Hatri S., KacimiG., Iftene D. (2018). Prévalence de la maladie rénale chronique chez le sujet âgé: la première enquête algérienne. *Néphrologie & Thérapeutique*, 14(5), 329.
- Collège Universitaire des Enseignants de Néphrologie., 2018.*NEPHROLOGIE* .8eme Ed,ellipses ,Paris ,P238,248.
- Cosserrat J., Grant A., et Waugh A., 2015. *Ross et Wilson. Anatomie et physiologie normales et pathologiques*. 12eme Ed ,Elsevier Health Sciences ,France, P362 ,363.

Références bibliographiques

- Courbebaisse, M., Souberbielle, J.-C. (2011). Equilibre phosphocalcique: régulation et explorations. *Néphrologie & Thérapeutique*, 7(2), 118-138.

D

- Delanaye P., Bouquegneau A., Krzesinski J.-M., Cavalier É., Jean G., Urena-Torres, P., Souberbielle J.-C. (2015). Place de la vitamine D native en dialyse. *Néphrologie & Thérapeutique*, 11(1), 5-15.
- Delanaye P., Krzesinski J.-M. (2005). Nouveautés à propos du métabolisme du phosphore. *Revue Médicale de Liège*, 60(3), 189-197.
- Dupont S., 2015. *L'anatomie et la physiologie pour les infirmier(e)s*. 2eme Ed, Elsevier Health Sciences, France, P297,298,299.
- Dussol B. (2011) .Différents stades de l'insuffisance rénale chronique, recommandations. *Immunoanalyse et biologie spécialisée* .26, 55-59.

E

- El Hebil M., Hamdi F., El Alaoui F., Chemlal A., Haddiya I., Bentata Y.(2017). Troubles phosphocalciques chez les patients hémodialysés chroniques: quelle atteinte des objectifs recommandés en 2017? *Néphrologie & Thérapeutique*, 13(5), 371.
- Elouazzani H., Sirajedine K., Aladib M., Colomb H. (2011). Les troubles phosphocalciques chez l'hémodialysé chronique: évaluation de l'adhésion aux recommandations K/DOQI. *Néphrologie & Thérapeutique*, 5(7), 425.
- Hernandez T., Stoermann-Chopard C. (2012). Vitamine D et insuffisance rénale chronique: regain d'intérêt pour une vitamine oubliée. *Revue Méd Suisse*, 8(2), 2140-2145.

G

- Garabédian M., Linglart A., Mallet E., Lienhardt-Roussie A. 2011. *Métabolisme phosphocalcique et osseux de l'enfant*. 2eme Ed, Médecine-Sciences publications-[Lavoisier], France, P 1.
- Gbaguidi A., Agboton C., Gbaguidi H., Davodoun T., Dueymes J. (2012). Évaluation du profil phosphocalcique des patients hémodialysés. *Néphrologie & Thérapeutique*, 5(8), 318.

Références bibliographiques

- Geoffrey K., (2005) . Rôle des sphingolipides dans la modification de la prolifération des cellules mésangiales rénales en réponse aux produits avancés de glycation (AGE) : implication dans le développement de la néphropathie diabétique. Thèse Doctorat en biochimie, Université Paris VII. Denis Didero. 31-97.
- Godin Ribuoat .D.(2011). le néphron et la circulation rénale , physiologie rénale .support de cours ,université Joseph Fourier ,France. P9.Disponible sur : www.medatice-grenoble.fr.
- Goldman L., Schafer A- I., 2019. *Goldman-Cecil Medicine*. Elsevier Health Sciences, France. P 29-72.
- Gougoux A., 2005. *Physiologie des reins et des liquides corporels*. Ed MultiMondes,Canada. P67.
- Gueutin V., Deray G., Isnard-Bagnis C., Janus N.(2011). La physiologie rénale. *Journal de Pharmacie Clinique*, 30(4), 209-214.
- Guidon C. (2017).hypercalcémies sévères. *EMC-Anesthésie –Réanimation*, 14(1), 1-11.

H

- HUART J., DUBOIS B., Krzesinski J.-M., Jouret F. (2015). Le cas clinique du mois: prise en charge d'une hypophosphatémie. *Revue Médicale de Liège*, 70(4), 163-168.

I

- Izzedine H., Deray,G. (2011). Acide urique et fonction rénale. *Revue du rhumatisme*, 78, S134-S141.

J

- Jame L.,2018. Hypocalcémie,Hyperphosphatémie. Edition professionnelle du Manuel MSD. Disponible sur : <https://www.msmanuals.com/fr/professional>.

Références bibliographiques

- Jean G., Chazot C.(2015). La vitamine D et l'insuffisance rénale chronique: les douze points essentiels. *Médecine Nucléaire*, 39(5), 420-425.
- Jean G., Chazot C. (2019). Complications et prises en charge thérapeutiques des anomalies du métabolisme phosphocalcique de l'insuffisance rénale chronique. *Néphrologie & Thérapeutique*, 15(4), 242-258.

K

- Kaci A F., Yakoubi A.,2017. Troubles phosphocalcique au cours de l'IRC. Thèse de doctorat : Médecine. Université Abderrahmane Mira –Bejaya, faculté de Médecine, P8.9.
- Kharoubi O., Benglia A.(2015). P-076: *Chronic renal failure and parathyroid hormone*. Paper presented at the Annales de Cardiologie et d'Angéiologie.
- Katti S., Laalouani N.,2017. Insuffisance rénale chronique .Thèse de doctorat :Médecine.Université de Bejaia , faculté de Médecine , p 30,31

L

- Laradi A., Babinet F., Cremault A.(2011). Profil épidémiologique et statut phosphocalcique des patients incidents pris en dialyse entre octobre 2010 et avril 2011. Comparatif avec l'ensemble des patients incidents de l'Observatoire photographique. *Néphrologie & Thérapeutique*, 5(7), 421.
- Larousse, 2016, Encyclopédie médicale, Insuffisance rénale.
https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/insuffisance_r%C3%A9nale/13924
- Lawrence E. A., Doherty D., Dhanda,R. (2018). Function of the nephron and the formation of urine. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine*, 19(5), 249-253.
- Limat S., Dupuis A., Fagnoni P., Demoré B., Fernandez C., Aulanger G.,Cazi J-L., 2018 . *Pharmacie clinique et thérapeutique*. Edition 5,Elsevier Health Sciences, France, P 977.

M

Références bibliographiques

- Manuelle C.,2008. *Les 5 fonctions vitales du corps humain: anatomo-physiopathologie*. Wolters Kluwer France.
- Mareen P., 2016, symptômes et complications de l'insuffisance rénale, MediPedia. Encyclopédie des maladies.
- Mehier P., Burnier M., Pruijm M. (2017). Inégalité homme-femme face aux maladies rénales chroniques: mythe ou réalité. *Revue Médicale Suisse*, 13, 473-476.
- Meyrier A Bertic C.,1993. *Maladie rénale de l'adulte*. Ed ellipse. P 26, 28, 41,43.
- Moisa R, Ackoundou-N'guessan C.K , Heng A.E, Isnard M, Deteix P.(2006). METABOLISME PHOSPHOCALCIQUE CHEZ LE DIALYSE : EVALUATION DES PRATIQUES AU CHU DE CLERMONT FERRAND AU REGARD DES INDICATIONS K/DOQI. *Int. Sc. Méd*, 8(2),28-31.
- Mondé A., Kouamé-Koutouan A., Lagou D., Camara-Cissé M., Achy B., Tchimou, L., Djessou P. , Sess E.(2013). Variations du calcium, du phosphore et de la parathormone au cours de l'insuffisance rénale chronique (IRC) en Côte d'Ivoire. *Médecine Nucléaire*, 37(10-11), 451-454.

N

- Naudin-Rousselle P, Kessler M., 2006. Les greffes rénales. cahier formation. Le moniteur des pharmacies formation. n°152 (cahier II du n°2646):6–9.

O

- Olmer M., 2007. *Vivre avec une maladie des reins*, Tome 1, La maladie rénale chronique, 3éme Ed, LIEN, France, P 16, 39, 66,72.

P

- Padelli M., Leven C., Sakka M., Plée-Gautier E., Carré J.-L.(2017). Causes, conséquences et traitement de l'hypophosphorémie: une revue systématique de la littérature. *La Presse Médicale*, 46(11), 987-999.
- Palmer S. C., McGregor D. O., Craig J. C., Elder G., Macaskill P., Strippoli G. F. (2009). Vitamin D compounds for people with chronic kidney disease requiring dialysis. *Cochrane Database of Systematic Reviews*(4).

Références bibliographiques

- Pegourié S. 2012, Etude de l'hémodialyse et mise en place de l'hémodiafiltration, Certification Professionnelle ABIH, UTC, URL : <http://www.utc.fr/abih> ; Université de Technologie de Compiègne.
- Perlemuter L., Perlemuter, G., 2019. *Guide de thérapeutique Perlemuter*.Edition 10,Elsevier Masson,Paris ,P 1481.
- PRET ; 2012 .Guide de préparation a la transplantation rénale. Centre Universitaire de santé McGill,1Ed,France.Disponible sur :<http://www.educationdespatientscusm.ca/>.

R

- Richet G. (2005) : Introduction du dosage de l'urée sanguine en pathologie rénale. *Néphrologie et thérapeutique*. 1 : 265- 68.

S

- Samaké M., Kodio A., Yattara H., Coulibaly M., SY S., Fofana A., Diallo D., Coulibaly SDB., Tangara M., Djiguiba, K., Maiga D., Dolo AM., Fongoro S.(2019). Profil Phosphocalcique des Patients Hémodialysés Chroniques dans le Service de Néphrologie et d'Hémodialyse du CHU du Point G. *HEALTH SCIENCES AND DISEASE*, 20(6).
- Schlienger J-L., 2013. *100 Situations clés en médecine générale*. Elsevier Masson, paris ,P 439.
- Segaert P. 2016, Les risques liés à l'hémodialyse, MediPedia. Encyclopédie des maladies.
- Schmitt C.,2011.Métabolisme phosphocalcique . Support de cour L2-UE8-Nutrition,P31.
- Sherwood L. ,2006.Physiologie humain .2eme Ed, de Boeck. Espagne ,P 404.
- Sthemer M.,2017 .La Physiologie : Le système urinaire .EPSN ,P6.

T

Références bibliographiques

- Testud F. (2011). Phosphore et composés inorganique. *Pathologie professionnelle et de l'environnement*, 30(3), 1-10.
- Tissandié E., Guéguen Y., Lobaccaro J.M. A., Aigueperse J., Souidi M. (2006). Vitamine D: métabolisme, régulation et maladies associées. *médecine/sciences*, 22(12), 1095-1100.

V

- Vakilzadeh N., Phan O., Ognia V. F., Burnier M., Wuerzner G., (2014). Nouveaux aspects de la prise en charge de l'hypertension artérielle chez le patient insuffisant rénal chronique [New aspects of hypertension management in patients with chronic kidney disease]. *Revue Médicale Suisse*, 10(441), 1668-1672.
- Vallet M., Tack, I., (2012). Physiologie du calcium et des phosphates. *Revue du Rhumatisme monographies*, 79(4), 203-209.
- Vanholder R. (2003): Uremic toxins. *Néphrologie*, 24. (7), 373-76.
- Villar E., Zaoui P.. (2010). Diabète et maladie rénale chronique: ce que nous apprend l'épidémiologie. *Néphrologie & Thérapeutique*, 6(7), 585-590.

W

- Wémeau J.L., Vialettes B., Schlienger J. L., 2014. *Endocrinologie, diabète, métabolisme et nutrition pour le praticien*. Elsevier Masson, Paris, p495-503.
- Wielgus C., 2013 l'éducation thérapeutique du patient hémodialysé : mise en place à l'hôpital de Mont-Saint-Martin. Thèse de doctorat : Pharmacie .Université de Lorraine ,P 51.52.

Y

- Young J., 2015. *Endocrinologie, Diabétologie et maladie métaboliques* . 3eme Ed, Elsevier Masson, Paris, P 471,472.

Références bibliographiques

Annexe 01

Annexe

Tableau : représentation des paramètres biochimiques des patients atteints d'insuffisance rénale chronique.

Nombre de patient	Urée	Créatinine	Acide urique	Calcium	Phosphore
1	0,35	12	44	79	44
2	0,75	16	9	84	23
3	0,37	9	27	71	52
4	0,59	16	5	66	77
5	0,98	29	79	70	91
6	1,64	87	79	90	65
7	0,86	20	95	63	40
8	0,53	9	42	81	45
9	2,01	35	100	75	47
10	0,28	7	23	69	52
11	0,24	8	38	80	51
12	0,35	10	32	77	64
13	0,48	11	36	76	62
14	2,35	80	109	69	133
15	1,95	82	37	76	15
16	2,03	65	60	56	26
17	0,91	21	89	80	53
18	1,68	77	79	90	65
19	1,12	67	46	90	55
20	1,14	53	41	88	39
21	1,39	80	43	77	62
22	1,28	68	62	81	68
23	1,7	71	63	70	48
24	1,98	80	117	86	49
25	1,01	49	110	68	32
26	1,07	31	92	87	43

Annexe

27	1,2	57	54	92	
28	0,73	21	54	102	23
29	1	22	120	77	38
30	0,59	27	80	84	33
31	0,41	10	52	90	50
32	0,37	7	30	85	60
33	0,56	25	48	92	55
34	0,38	11	43	86	45
35	0,23	7	38	62	59
36	0,29	8	46	62	52
37	1,52	73	46	84	66
38	0,81	44	26	80	39
39	0,80	72	42	97	52
40	1,23	82	60	89	63

Annexe 02

Appareillages, matériel et réactifs du dosage :



Figure 1 : 1- Centrifugeuse «Rotorfix 32» photo originale(2020).



Figure.2. Spectrophotomètre «Erba Humain» photo originale(2020).



Figure.3. Micropipettes. photo originale (2020).

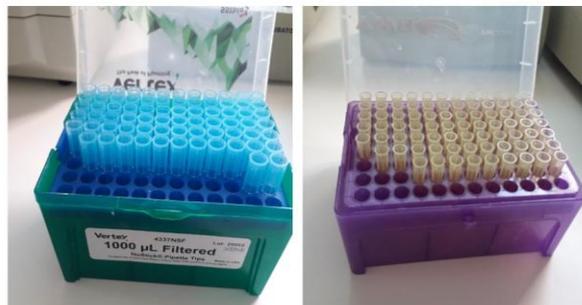
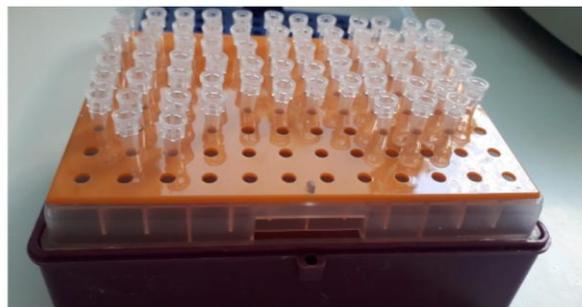


Figure.4. Embout « Vertex ».photo originale (2020)

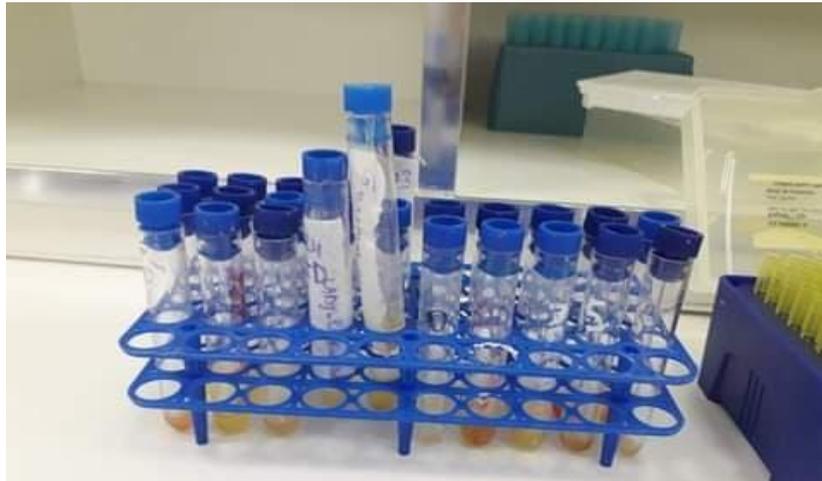


Figure 4.tubes à essais. **photo originale (2020)**

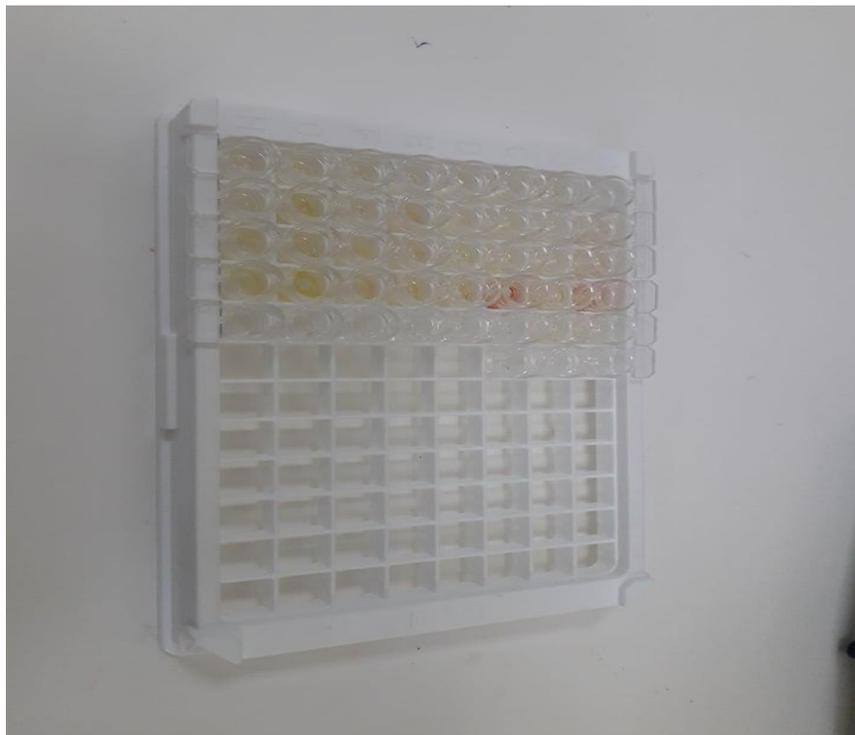


Figure 5.plaque de microtitrage. **Photo originale (2020)**



Figure 6. Le réactif de créatinine. Photo originale(2020).



Figure 7. Le réactif d'urée. Photo originale(2020).



Figure 8. Le réactif d'acide urique. Photo originale(2020).

Annexe



Figure 9. Le réactif de calcium. Photo originale(2020).



Figure 10. Le réactif de phosphore. Photo originale(2020).



Figure11 : Réactif de la vitamine D .Photo originale (2020).

Annexe 3

Annexe

La fiche technique du réactif de l'urée. (Biomaghreb).





PRESENTATION

Ref. 201 41, (200 Tests)	Ref. 20146, (500 Tests)	Ref. 20146, (1000 Tests)
R1 : 2 x 100 ml	R1 : 1 x 500 ml	R1 : 2 x 500 ml
R2 : 2 flacons (lyoph)	R2 : 1 flacons (lyoph)	R2 : 2 flacons (lyoph)
R3 : 1 x 4ml	R3 : 1 x 5 ml	R3 : 2 x 5 ml
R4 : 2 x 10 ml (10 x conc)	R4 : 1 x 50 ml (10 x conc)	R4 : 2 x 50 ml (10 x conc)

UREE COLOR

Méthode Berthelot modifiée

PRINCIPE

L'urée est dosée en cinétique selon la réaction suivante :

$$\text{Urée} + \text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{Uréase}} 2\text{NH}_3 + \text{CO}_2$$

Les ions ammonium, en présence de salicylate et d'hypochlorite de sodium réagissent en formant un composé de couleur verte (Dicarboxylindophenol) dont l'intensité est proportionnelle à la concentration en urée.

REACTIFS

Réactif 1 Tampon	
Réactif 2	EDTA 2 mmol/l
	Salicylate de sodium 60 mmol/l
	Nitroprussiate de sodium 32 mmol/l
	Uréase 30000 U/l
	Phosphate pH 6,7 60 mmol/l
Réactif 3	Etalon urée 0,50 g/l 8,325 mmol/l
Réactif 4	Hypochlorite de sodium 40 mmol/l 10 x [] Hydroxyde de sodium 150 mmol/l

	Blanc	Etalon	Echantillon
Etalon	-	10 µl	-
Echantillon	-	-	10 µl
Réactif de travail A	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger, incuber 5 min. à 37° C ou 10 min. à 20-25°C. Ajouter ensuite.

Réactif 4	1 ml	1 ml	1 ml
-----------	------	------	------

Mélanger, incuber 5 min. à 37°C ou 10 min. à 20° - 25°C. Lire contre le blanc. Stabilité de la coloration 2 heures à l'abri de la lumière

CALCUL

$$\text{Urée} = \frac{\text{D.O. Echantillon}}{\text{D.O. Etalon}} \times n$$

g/l : n = 0,50
mmol/l : n = 8,325

PREPARATION ET STABILITE

Le réactif 4 est à compléter avec 90 ml d'eau distillée :
 Réf. 20141, 450 ml d'eau distillée Réf. 20146 ou Réf. 20148
 Dissoudre le flacon R2 dans le tampon R1 : réactif A.
 Les réactifs de travail sont stables : 6 mois à 2-8°C,
 14 Jours à 20-25°C

ECHANTILLONS

Sérum, plasma recueilli sur héparine.
 Urine diluée au 1/50 avec de l'eau distillée.

MODE OPERATOIRE

Longueur d'onde : 590 nm (578 Hg)
 Température : 25-30-37°C
 Cuve : 1 cm d'épaisseur
 Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

LINEARITE

La méthode est linéaire jusqu'à 4 g/l (66,6 mmol/l)
 Dans les urines, la méthode est linéaire jusqu'à 100 g/l .

VALEURS USUELLES

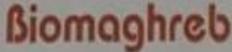
Sérum, plasma	15 - 40 mg /dl
	0,15 - 0,40 g/l
	2,49 - 6,66 mmol/l
Urine	20-35 g/24h

BIBLIOGRAPHIE

Balleter, W.G., Bushaman, C.S., Tidwell, P.W., Anal. Chim. 33,59
 Berthelot, M.P.E., Report Chim. Appl. 284 (1859)
 Mac Key, E.M., Rackeyll, J. Clin. Invest, J. Clin. Invest. 4, 295 (1927)

Annexe

La fiche technique du réactif de la créatinine. (Biomaghreb).





PRESENTATION

Ref. 20151, (320Tests) R1 : 2 x 80 ml R2 : 2 x 80 ml R3 : 1 x 15 ml	Ref. 20152, (3000Tests) R1 : 3 x 500 ml R2 : 3 x 500 ml R3 : 3 x 50 ml	Ref. 20153, (1000Tests) R1 : 1 x 500 ml R2 : 1 x 500 ml R3 : 2 x 25 ml
--	---	---

CREATININE
Méthode cinétique colorimétrique sans déproteïnisation

PRINCIPE
La créatinine forme en milieu alcalin un complexe coloré avec l'acide picrique. La vitesse de formation de ce complexe est proportionnelle à la concentration de créatinine.

Réactif 1	Hydroxyde de sodium	1.6 mol/l
Réactif 2	Acide picrique	17.5 mmol/l
Réactif 3	créatinine	2 mg/dl 20 mg/l
Standard		176.8 µmol/l

PREPARATION et STABILITE
Les réactifs sont prêts à l'emploi, stables à température ambiante jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette.
Réactif de travail: mélanger à parts égales R1 et R2
Stabilité : 1 mois à 20±5°C.

ECHANTILLONS
Sérum, plasma recueillis sur héparine
Urine diluée au 1/20 dans l'eau distillée (tenir compte de la dilution pour le calcul).

MODE OPERATOIRE
Longueur d'onde:492 nm (490 - 510)
Température:.....25 - 30 ou 37 °C
Cuve:.....1 cm d'épaisseur
Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur l'air ou l'eau distillée.

VALEURS USUELLES

Sérum	0.7 - 1.4 mg/dl 7-14 mg/l 61.8 -132.6 µmol/l
Urine	15-25 mg/kg/24h

BIBLIOGRAPHIE
Henry J.B., Clinical Diagnosis and management 17th édition, Saunders Publisher 1984.
Larsen K., Clin. Chim. Acta 66, 209 (1972).

	Standard	Echantillon
Standard	100 µl	--
Echantillon	--	100 µl
Réactif de travail	1 ml	1 ml

Mélanger et lire les densités optiques DO1 après 30 sec.
Lire ensuite DO2 exactement 1 minute après.

CALCUL
Calculer $\Delta DO = DO2 - DO1$ pour le standard et les échantillons.

$$\text{Créatinine} = \frac{\Delta DO \text{ Echantillon}}{\Delta DO \text{ Standard}} \times n$$

mg/dl: n = 2
mg/l: n = 20
µmol/l: n = 176.8

LINEARITE
La méthode est linéaire jusqu'à 150 mg/l (15 mg/dl - 1326 µmol/l).
Si la concentration en créatinine est supérieure à 150 mg/l, diluer l'échantillon au 1/2 avec une solution de NaCl à 9 g/l et recommencer le test. Multiplier le résultat par 2.

La fiche technique du réactif de l'acide urique. (Biomaghreb).

Biomaghreb

PRESENTATION

Réf. 20091, (375 Tests) R1 : 3 x 125 ml R2 : 3 flacons (lyophil) R3 : 1 x 8 ml	Réf. 20095, (340 Tests) R1 : 2 x 120 ml R2 : 2 flacons (lyophil) R3 : 1 x 8 ml
Réf. 20092, (120 Tests) R1 : 4 x 30 ml R2 : 4 flacons (lyophil) R3 : 1 x 8 ml	Réf. 20096, (800 Tests) R1 : 5 x 120 ml R2 : 5 flacons (lyophil) R3 : 2 x 8 ml

PRINCIPE
L'acide urique est dosé selon les réactions suivantes:

Uricase

Acide urique + 2H₂O + O₂ -----> Allantoïne + CO₂ + H₂O₂

Péroxydase

2H₂O₂ + Amino-4-antipyrine -----> Quinone rose + 4H₂O

+ Dichloro 2-4 Phénolsulfonate -----> Quinone rose + 4H₂O

REACTIFS

Réactif 1	Tampon phosphate pH 7.4	50mmol/l
Solution tampon	Dichloro 2-4 Phénolsulfonate	4 mmol/l
Réactif 2	Uricase	70 U/l
Enzymes	Péroxydase	880 U/l
	Amino-4-Antipyrine	1 mmol/l
Réactif 3	Acide urique	6 mg/dl
Standard		60 mg/l
		357 µmol/l

PREPARATION ET STABILITE
Dissoudre le lyophilisat R2 avec le contenu d'un flacon Tampon R1 Réf (20091), (20092), (20095), (20096).

Le réactif de travail est stable : 7 jours à 20-25°C
3 semaines à 2-8°C

ECHANTILLONS
Sérum, plasma recueillis sur héparine
Urine diluée au 1/10 dans l'eau distillée.

MODE OPERATOIRE
Longueur d'onde :510 nm (490-550)
Température :20-25°C ou 37°C
Cuve :1 cm d'épaisseur
Ajuster le zéro du spectrophotomètre sur le blanc réactif.

ACIDE URIQUE

Test colorimétrique
Uricase-PAP

CALCUL

$$\text{Acide urique} = \frac{\text{D.O. Echantillon}}{\text{D.O. Standard}} \times n$$

mg/dl n = 6
mg/l n = 60
µmol/l n = 357

Urine multiplier le résultat par 10.

LINEARITE
La méthode est linéaire jusqu'à 250 mg/l (25 mg/dl = 1487,5 µmol/l). Si la concentration en acide urique est supérieure à 250 mg/l, recommencer le test sur un échantillon dilué au 1/2 avec une solution de NaCl à 9 g/l. Multiplier le résultat par 2.

VALEURS USUELLES

Sérum ou plasma	
Femmes	2.5 - 6.0 mg/dl 25 - 60 mg/l 148 - 357 µmol/l
Hommes	3.4 - 7.0 mg/dl 34 - 70 mg/l 200 - 415 µmol/l
Urine	250 - 750 mg/24 h

Si les urines sont troubles, les chauffer à 60°C pendant 10 mn afin de dissoudre l'acide urique.

BIBLIOGRAPHIE
Barham et Trinder, Analyst 97, 142 (1972)
Fossati et Principe, Clin. Chem. 28, 227 (1980)

	Blanc	Standard	Echantillon
Standard	--	20 µl	--
Echantillon	--	--	20 µl
Réactif de travail	1 ml	1 ml	1 ml

Mélanger, lire les DO après une incubation de 5 min. à 37° C ou de 10 min. à 20 - 25°C. La coloration est stable 30 minutes.

La fiche technique du réactif de calcium. (TECO DIAGNOSTICS).



TECO DIAGNOSTICS

1268 N. Lakeview Ave.
Anaheim, CA 92807
1-800-222-9880

CALCIUM REAGENT SET

INTENDED USE

For the direct, colorimetric determination of calcium in human serum or urine.

INTRODUCTION

More than 99% of body calcium exists in bones and teeth. The remaining 1% is present in blood and soft tissues and serves as a cofactor in blood coagulation, metabolism, and neuromuscular physiology. Serum calcium is present in three different forms: 1) nearly 45% is bound by serum proteins, 2) about 5% is complexed in a non-ionized form and 3) the remaining 50% serum calcium is in an ionic (free) form. It is the physiologically active ionic fraction that is important in terms of biological function.

Many factors influence serum calcium levels: hypercalcemia (increased serum calcium) is observed in hyperparathyroidism, hypervitaminosis, sarcoidosis, myeloma, and certain cancers of the bone. Hypocalcemia (decreased serum calcium) is encountered in hypoparathyroidism, rickets, nephrosis, nephritis, steatorrhea, and pancreatitis. Any decrease in serum proteins frequently results in a decrease of the total serum calcium level. Similarly, an increase in protein such as in myeloma may increase the total serum calcium level. There also appears to be a reciprocal relationship between calcium and phosphorus. Increases in serum inorganic phosphorus are associated with a decrease in serum calcium.¹

~~Earlier procedures for the determination of calcium involved precipitation of calcium and subsequent determination of the anion of the precipitating agent. More recently, calcium compounds have been determined by atomic absorption spectrophotometry, which has subsequently been recommended as the reference method for determining total serum calcium.² Atomic absorption spectrophotometry involves the use of an expensive and dedicated instrument. With the development of chelating reagents and metallochromic indicators, the atomic absorption methods were rapidly replaced by complex metric procedures, which can measure calcium in the serum directly.^{3,4,5}~~

PRINCIPLE

Calcium + O-Cresolphthalein Complexone $\xrightarrow{\text{Alkaline}}$
Medium

Calcium - Cresolphthalein Complexone Complex (purple color)

Calcium reacts with cresolphthalein complexone in 8-hydroxyquinoline to form a colored complex (purple color) that absorbs at 570 nm (550 – 580 nm). The intensity of the color is proportional to the calcium concentration. Color intensifiers and a stabilizer are present to minimize interference by other metallic ions.

REAGENT COMPOSITION

When reconstituted as directed, the reagent for calcium contains the following:

1. **Calcium Color Reagent (A):** O-Cresolphthalein Complexone 0.14 mM, 8-Hydroxyquinoline 13 mM.
2. **Calcium Buffer:** Diethylamide 363 mM, Potassium Cyanide, 2 mM, Non-reactive ingredients, and stabilizers in both reagents A and B.
3. **Calcium Standard:** Calcium Carbonate in dilute hydrochloric acid (10 mg/dl).

WARNINGS AND PRECAUTIONS

1. For *in vitro* diagnostic use.
CAUTION: In vitro diagnostic reagents may be hazardous. Handle in accordance with good laboratory procedures, which dictate avoiding ingestion and eye or skin contact.
2. Reagent (A) and (B) may be irritating to skin. Avoid contact.
3. Reagent (B) contains cyanide and should **NOT BE PIPETTED BY MOUTH.**

REAGENT PREPARATION

1. Combine equal volumes of Calcium Color Reagent (A) and Calcium Buffer (B), mix and let stand for ten (10) minutes at room temperature before use.
2. Reagents should be combined in clean plastic vessels. Water and Glassware containing calcium will react with the reagent. All glassware should be rinsed in diluted hydrochloric acid before use.

REAGENT STORAGE AND STABILITY

1. All reagents should be stored at room temperature (15 - 30°C).
2. Combined reagent (A and B) is stable for two (2) weeks refrigerated and one (1) week at room temperature. Keep bottles tightly capped to prevent evaporation.

REAGENT DETERIORATION

The reagent should be discarded if:

1. Turbidity has occurred; turbidity may be a sign of contamination.
2. The reagent fails to meet linearity claims or fails to recover control values in the stated range.

SPECIMEN COLLECTION

Serum:

1. Fasting non-hemolyzed serum is specimen of choice.
2. Anti coagulants other than heparin should not be used.⁶
3. Remove serum from clot as soon as possible since red cells can absorb calcium.⁷
4. Older serum specimens containing visible precipitate should not be used.^{8,9}
5. Tubes with cork stoppers should not be used.¹⁰
6. Serum calcium is stable for twenty-four (24) hours at room temperature (15 - 30°C), one (1) week refrigerated (2 - 8°C) and up to five (5) months frozen and protected from evaporation.¹¹

Urine:

1. Collect 24 hours urine in a dry clean container containing 20-30 ml of 6N HCl.
2. Alternatively use 1-2 ml of 6N HCl for random sample.

INTERFERING SUBSTANCES

1. Substances that contain calcium or complex calcium should not come in contact with the test specimen. Examples: EDTA, citrate, oxalate, and fluoride.
2. Specimens from patients receiving bromsulphthalein (BSP) or EDTA should not be used.
3. For a list of substances affecting the accuracy of calcium values with this procedure refer to the references.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Accurate pipetting devices
2. Test tubes/rack
3. Timer
4. Spectrophotometer able to read at 570 nm

GENERAL INSTRUCTIONS

The reagent for Calcium is intended for use as either as an automated procedure on chemistry instruments or as a manual procedure on a suitable spectrophotometer.

MANUAL PROCEDURE

1. Prepare working reagent. See "REAGENT PREPARATION".
2. Label tubes Blank, Standard, Controls, Patients, etc.
3. Transfer 1.0 ml of working reagent into each tube.
4. Add 0.02 ml (20 µl) of sample to the respective tubes and mix*.
5. Let stand for at least sixty seconds (60) at room temperature.
6. Zero spectrophotometer with blank at 570 nm. (Wavelength range: 550 - 600 nm)
7. Read and record absorbances of all tubes. Final color is stable for twenty minutes (20).

* TC MULTI-PURPOSE CALIBRATOR MAY BE USED TO REPLACE STANDARD.

* ALTERNATIVE VOLUMES: (0.05 ml sample to 3.0 ml reagent).

LIMITATIONS

1. The reagent is linear to 20 mg/dl. Samples with values above 20 mg/dl should be diluted 1:1 with saline, re-assayed and the result multiplied by two (2).
2. Lipemic or hemolyzed samples require a serum blank. To prepare a serum blank add 0.05 ml (50 µl) of sample to 3.0 ml distilled water. Mix and read against water at 570 nm. Subtract the absorbance reading from the test reading and perform calculation.
3. Contamination of glassware with calcium (usually from detergents) will adversely affect the test. Use acid-washed glassware or plastic tubes.

CALCULATIONS

$\frac{\text{Abs. of Unknown}}{\text{Abs. of Standard}} \times \text{Conc. of std.} = \text{Calcium (mg/dl)}$

Example: If the absorbance of unknown = 0.74, absorbance of standard = 0.84, concentration of standard = 10 mg/dl, then,

$$\frac{0.74}{0.84} \times 10 = 8.8 \text{ mg/dl}$$

NOTE: To convert mg/dl to meq/L, divide mg/dl by two (2).

QUALITY CONTROL

It is recommended that controls be included in each set of assays. Commercially available control material with established calcium values may be routinely used for quality control. The assigned value of the control material must be confirmed by the chosen application. Failure to obtain the proper range of values in the assay of control material may indicate reagent deterioration, instrument malfunction, or procedural errors.

EXPECTED VALUES

8.5 – 10.5 mg/dl

Children under 12, usually have high normal values, which decrease with aging.

It is strongly recommended that each laboratory establish its own range of expected values, since differences exist between instruments, laboratories, and local populations.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

1. Linearity: 20 mg/dl.
2. Comparison: A study performed with a similar method yield correlation coefficient of 0.97 with a regression equation of $y = 0.94x + 0.53$.
3. Precision:

Mean (mg./dl)	Within Run	
	S.D.	C.V. (%)
9.1	0.39	4.3%
13.7	0.02	0.2%

Mean (mg./dl)	Run to Run	
	S.D.	C.V. (%)
9.2	0.21	2.2%
13.3	0.32	2.4%

REFERENCES

1. Faulker, W.R. and Meites, S.: *Selected Methods for the Small Clinical Chemistry Laboratory*, Washington, D.C. p. 125 (1982).
2. Cali, J.P., et al.: *A Reference Method for the Determination of Calcium in Serum* N.B.S., sp. publication, 260:32 (1972).
3. Andregg, G., et al.: *Helv. Chim. Acta.* 37: (1954).
4. Schwarzenbach, G.: *Analys.* 80:713 (1955).
5. Gitelman, H.: *Anal. Biochem.* 20:5521 (1967).
6. Richterich, R.: *Clinical Chemistry: Theory and Practice* Academic Press, New York, p. 304 (1969).
7. Peters, J.P., Van Slyke, D.D.: *Quantitative Clinical Chemistry* vol. 2. Baltimore, Williams and Wilkins, (1932).
8. Chen, P.S., et al.: *Anal. chem.* 26:1967 (1954).
9. Tayeau, F., et al.: *Bull. Sec. Pharm. Bordeaux* 95:206 (1956).
10. Kopito, L., et al.: *N. Engl. J. Med.* 2730:113 (1965).
11. Henry, R.J., et al.: *Clinical Chemistry: Principles and Techniques* Harper and Row, Hagerstown, M.D. p. 669 (1974).

C503: 04/2012

Manufactured by:



TECO DIAGNOSTICS
1268 N. LAKEVIEW AVE.
ANAHEIM, CA 92807
U.S.A.



Authorized Representative:
Emergo Europe
Molenstraat 15
2513 BH The Hague
The Netherlands

La fiche technique du réactif de phosphore. (TECO DIAGNOSTICS).



TECO DIAGNOSTICS
1268 N. Lakeview Ave.
Anaheim, CA 92807
1-800-222-9880

**INORGANIC PHOSPHORUS REAGENT
(COLOR METHOD)**

INTENDED USE
Inorganic phosphorus reagent is used for the quantitative determination of inorganic phosphorus in human serum.

INTRODUCTION
The majority of the body's phosphorus is found in the bone as hydroxyapatite. The remaining phosphate is present as inorganic phosphate and phosphate esters. Phosphorus is involved in the intermediary metabolism of carbohydrates, and is a component of other physiologically important substances. Thus, increased serum phosphorus may occur in hypervitaminosis, hypoparathyroidism, and renal failure. Reduced serum phosphorus levels are seen in rickets (vitamin D deficiency) hyperparathyroidism, and Fanconi's syndrome.

The measurement of inorganic phosphorus in serum is usually accomplished by forming a phosphomolybdate complex and in turn reducing it to a molybdenum blue color complex. Methods differ as to the choice of reducing agents: Stannous Chloride,¹ Phenylhydrazine,² Aminonaphtholsulfonic acid,³ Ascorbic acid,⁴ P-methylaminophenolsulfate,⁵ N-Phenyl-p-phenylenediamine⁶ and Ferrous Sulfate.⁷ These methods suffered from color instability, deproteinization steps and complexity of performance.⁵ The addition of a surfactant eliminated the need to prepare a protein-free filtrate, accelerated color production, stabilized the color and simplified the procedure. Our method is based on a modification of the above method using Ferrous Ammonium Sulfate as the reducing agent.

PRINCIPLE
Inorganic phosphorus reacts with ammonium molybdate in an acid medium to form a phosphomolybdate complex. This complex is reduced by ferrous ammonium sulfate to produce a molybdenum blue complex. The color produced is measured at 675 nm and its intensity is directly proportional to the concentration of inorganic phosphorus present.

MATERIALS PROVIDED

1. Inorganic Phosphorus Reagent: Containing Ammonium Molybdate 2.4 mM, Sulfuric Acid 750mM, Ferrous Ammonium Sulfate 10.2 mM, Surfactant.
2. Inorganic Phosphorus Standard (Aqueous Solution): Containing Potassium Phosphate in distilled water (5 mg/dl).

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED

1. Accurate pipetting devices.
2. Test tubes/rack.
3. Timing device.
4. Spectrophotometer with ability to read at 675 nm (650 - 700).

PRECAUTIONS

1. The reagents are for *in vitro* diagnostic use only.
2. This reagent is an acid and is caustic. Avoid contact with skin. Flush with plenty of water if contact occurs. **DO NOT PIPETTE BY MOUTH.**

REAGENT PREPARATION
Reagent comes in a ready to use form.

REAGENT STORAGE
Store reagent and standard at refrigerator temperature (2 - 8°C).

REAGENT DETERIORATION
The reagent should be clear to blue. Any precipitate or change of color to green would indicate contamination and the reagent should not be used.

SPECIMEN COLLECTION AND STORAGE

1. Unhemolyzed serum is specimen of choice.
2. Plasma should not be used since anticoagulants may produce falsely low values.¹⁰
3. Hemolyzed samples may give falsely high values.
4. Serum should be removed from the red cell clot as soon as possible.¹¹
5. Serum inorganic phosphorus is stable for one (1) week refrigerated and for three (3) weeks frozen.^{11,12}

INTERFERENCES
For a comprehensive list of substances that interfere with the Measurements of Inorganic Phosphorus see Young, et al.

PROCEDURE (AUTOMATED)
See appropriate instrument application instructions.

PROCEDURE (MANUAL)

1. Label test tubes Blank, Standard, Control, Patient, etc.
2. Transfer 1.0 ml of reagent into each tube. Allow to come to room temperature (25°C).
3. Transfer 0.020 ml (20 µl) of sample to respective tubes and mix by inversion. (Alternate volumes: 100 µl/3 ml reagent)
4. Allow tubes to stand for at least ten (10) minutes.
5. Zero spectrophotometer at 675 nm with the reagent blank. Read and record absorbencies of all tubes. (Wavelength range: 600 - 675nm).

* TC - MULTI PURPOSE CALIBRATOR MAY BE USED TO REPLACE STANDARD.

PROCEDURE NOTES

1. Final color is stable for at least thirty (30) minutes.
2. Specimens with values above 14 mg/dl should be diluted 1: with saline, re-assayed and the result multiplied by two (2).
3. Severely lipemic and icteric samples require a serum blank. To 1.0 ml of saline add 0.02 ml (20 µl) of sample mix and read at 675 nm blanked against saline. Subtract the absorbance reading from the test absorbance. Calculate as usual.

CALIBRATION
Use the stable aqueous standard provided in the kit for the calibration. The concentration of inorganic phosphorus should be validated by comparison with commercially available standard. The linearity of this procedure extends to 14 mg/dl.

QUALITY CONTROL

1. It is recommended that high and low values of inorganic phosphorus are included in each set of assays.
2. Commercially available control materials with established inorganic phosphorus values may be used for quality control.

CALCULATIONS

Abs. = Absorbance

$$\frac{\text{Abs. Of Unknown}}{\text{Abs. Of Standard}} \times \text{Conc. Of Std.} = \text{Inorganic Phosphorus (mg/dL)}$$

Example: Abs. of Unknown = 0.20
 Abs. of Standard = 0.290
 Conc. of Standard = 5 mg/dl

Then: $\frac{0.20}{0.290} \times 5 = 3.4 \text{ mg/dl}$

To obtain results in SI units (mmol/L), multiply the results in mg/dl by ten (10) to convert dl to liter and divide the value by thirty (30), the molecular weight of inorganic phosphorus.

Example: $\text{mg/dl} \times \frac{10}{3} = \text{mg/dl} \times 0.3333 = \text{mM/L}$

$3.4 \times 0.3333 = 1.13 \text{ mM/L}$

LIMITATIONS

Detergents containing phosphate should not be used for cleaning glassware used in this procedure.

EXPECTED VALUES

Adults:¹⁴ 2.5 - 4.8 mg/dl
 Children:¹⁵ 4.0 - 7.0 mg/dl

Values are decreased during menstrual period and after meals.¹⁵
 It is strongly recommended that each laboratory establish its own normal values.

PERFORMANCE

- Linearity:** 14 mg/dl
- Sensitivity:** Based on an instrument resolution of A - 0.001, the present procedure has a sensitivity of 0.02 mg/dl.
- Comparison:** A comparison study was performed between the present method and one based on the UV method. The correlation coefficient was 0.95 with a regression equation of $Y = 0.89X - 0.13$ (N=40).
- Precision:**

Within Run Precision: Two commercial control sera were assayed twenty (20) times and the following within run precision was obtained.

Mean	S.D.	C.V.(%)
3.1	0.1	3.2
6.8	0.2	2.9

Day-to-Day Precision: Two commercial control sera were assayed for a period of thirty (30) days the following day to day precision was obtained.

Mean	S.D.	C.V.(%)
3.2	0.2	6.2
7.3	0.5	6.8

REFERENCES

- Osmond, M.F., Bull. Soc. Chim., Paris, 47 - 745 (1887).
- Taylor, A.E., Miller, C.W., J. Biol. Chem., 18 - 215 (1914).
- Fiske, C.H., Subbarow, Y.J. Biol. Chem. 66 - 375 (1925).
- Lowry, O.H., Lopez, J.A., J. Biol. Chem., 162 - 421 (1946).
- Power, M.H., Standard Methods of Clinical Chemistry, Academic Press, New York, (1953).
- Dryer, R.L., et al., J. Biol. Chem., 225 - 177 (1957).
- Taussky, H.H., Shorr, E., J. Biol. Chem., 202 - 675 (1953).
- Martinek, R.G., J. Am. Med. Tech., 32 - 337 (1970).
- Daly, J.A., Ertingshausen, G., Clin. Chem., 18 - 263 (1972).
- Goldenberg, H., Fernandez, A., Clin. Chem., 12 - 871 (1966).
- Henry, R.J., et al., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 409, New York, Harper & Row, 122 - 143 (1964).
- Hansk, A., Kaö, J., Clin. Chem., 14 - 58 (1968).
- Young, D.S., et al., Clin. Chem., 21 - 1.D (1975).
- Henry, R.J., et al., Clinical Chemistry: Principles and Technics, 409, New York, Harper & Row, 728 (1974).
- Tietz, N.W., Fundamentals of Clinical Chemistry, W.B. Saunders, Philadelphia, 917 (1976).

IS15: 04/2012

Manufactured by:



TECO DIAGNOSTICS
 1268 N. LAKEVIEW AVE.
 ANAHEIM, CA 92807
 U.S.A.



Authorized Representative:
 Emergo Europe
 Molensstraat 15
 2513 BH The Hague
 The Netherlands

La fiche technique du réactif de la vitamine D (Human)

25-OH Vitamin D

ELISA for the quantitative measurement of 25-OH Vitamin D in human serum.

Package Size
REF 55500 96 Tests Complete Test kit
IVD

Intended Use

The 25-OH Vitamin D ELISA is used for the quantitative determination of 25-hydroxy Vitamin D2 and D3 (25-OH-D2 and 25-OH-D3) in human serum.

Vitamin D is the generic term used to designate Vitamin D2 (ergocalciferol) and Vitamin D3 (cholecalciferol). 25-OH Vitamin D stimulates the intestinal absorption of both calcium and phosphate and also bone resorption and mineralisation. Vitamin D deficiency is an important risk factor for rickets, osteomalacia, senile osteoporosis, cancer, pregnancy outcomes and autoimmune diseases. The measurement of both 25-OH Vitamin D forms is also required to determine the cause of abnormal serum calcium concentrations in patients. Vitamin D intoxication has been shown to cause kidney and tissue damages.

Principle

The 25-OH Vitamin D ELISA is a solid phase enzyme-linked immunosorbent assay performed on microtiter plates for professional use. During a first incubation step at room temperature, total 25-OH Vitamin D (D2 and D3) present in calibrators, controls and samples is dissociated from its binding serum proteins to a specific monoclonal antibody (mAb). After a washing step, a defined amount of biotin-labelled 25-OH Vitamin D in presence of streptavidin-horse radish peroxidase (HRP), compete with 25-OH Vitamin D2 and 25-OH Vitamin D3 bound to the paratopes of the specific monoclonal antibody. After further incubation at room temperature, the microtiter plate is washed to stop the competition reaction. Now the substrate is added and incubated. The colour-forming reaction is stopped by addition of stop solution, the colour turns from blue to yellow. Then the microtiterplate is read at the appropriate wavelength (450 nm). The amount of formed reaction product is determined colourimetrically by measuring the absorbance, which is inversely proportional to the total 25-OH Vitamin D (D2 and D3) concentration. A calibration curve is plotted and the total 25-OH Vitamin D (D2 and D3) concentrations of the samples are determined by interpolation from the calibration curve.

Reagents and Contents

[MTP]	12	Microtiter Strips (in strip holder) 8-well snap-off strips, coated with anti-(25-OH vitamin D2 and D3) mAb lyophilized
[CAL0]	1 ml	Vitamin D Calibrator, 0 ng/ml (white cap, grey label), lyophilized
[CAL1]-[CAL5]	1 ml	Vitamin D Calibrators (white cap, yellow label), lyophilized For calibrator levels please refer to the bottle label
[CONTROL1]	1 ml	Vitamin D Control 1 (white cap, red label) Lyophilized, human plasma For control levels please refer to the bottle label
[CONTROL2]	1 ml	Vitamin D Control 2 (white cap, red label) Lyophilized, human plasma For control levels please refer to the bottle label
[INCBUF]	20 ml	Incubation Buffer (green cap) Ready for use
[CON100x]	300 µl	Vitamin D Conjugate Solution (white cap) Concentrate (100x), dilute with [CONBUF]
[CONBUF]	30 ml	Conjugate Buffer (white cap), Ready for use
[HRP200x]	200 µl	HRP Solution (yellow cap), Concentrate (200x), dilute with [CONBUF]
[WASH200x]	10 ml	Washing buffer (brown cap) Concentrate (200x) Tris buffer pH 8.0
[SUB]	12 ml	Substrate, TMB solution (brown bottle) Ready for use
[STOP]	12 ml	Stop Solution (red cap), Ready for use HCl 1M

Additional material required (not provided)

- Vortex mixer (e.g. HumaTwist*)
- Magnetic stirrer
- Plate shaker (400 rpm)
- Washer for microtiter plates (e.g. Combivash*)
- Microtiter plate reader (e.g. HumaReader*) or automated instruments (e.g. Elsys Line*) capable of reading at 450 nm and 650 nm (bichromatic reading)

*material available from HUMAN

Safety Notes

Do not swallow the reagents. Avoid contact with eyes, skin and mucous membranes. All patient specimens and controls should be handled as potentially infectious. The controls have been checked on donor level for HCV and HIV-1/2 antibodies and HBsAg and found negative. Wear protective clothing and disposable gloves according to Good Laboratory Practices.

All materials contaminated with patient specimens or controls should be inactivated by validated procedures (autoclaving or chemical treatment) in accordance with applicable regulations.

Stability

Before opening or reconstitution, all kit components are stable until the expiry date, indicated on the label, if kept at 2...8°C.

[MTP]

- Sealed in an aluminium bag with a desiccant.
- Before opening, the strips must be at room temperature.
- Unused: return to the zip-lock bag with the desiccant. Strips stored in this way at 2...8°C can be used until the expiration date (see also "Note").
- Do not touch the upper rim or the bottom of the wells with fingers.

Reagent Preparation

Bring all reagents to room temperature (15...25°C) before use.

Reagents not in use should always be stored at 2...8°C.

Mix all reagents and samples thoroughly by gentle agitation or swirling.

Working Wash Solution [WASH] *2ml → 398 µl distilled water*
 Dilute 1 part [WASH200x] with 199 parts distilled water, use a clean plastic container. Use a magnetic stirrer to mix thoroughly.

- Freshly prepared working wash solution should be used on the same day. Alterations in physical appearance of kit reagents may indicate instability or deterioration.

Calibrator and Control Working Solutions

- [CAL0] - [CAL5]: Reconstitute the calibrators 0 - 5 with 1 ml distilled water.
- [CONTROL1] + [CONTROL2]: Reconstitute the controls with 1 ml distilled water.
- After reconstitution, calibrators and controls are stable for 8 weeks at 2...8°C. For longer storage periods, aliquots should be stored at -20°C for maximum 4 months. Avoid subsequent freeze-thaw cycles.

Working Conjugate Solution

△ [HRP]: The working HRP conjugate solution is to be prepared during the incubation and minimum 45 minutes before its use.

Prepare an adequate volume of [HRP] by mixing the 3 reagents in the following sequence:

- [CONBUF], (2) [CON100x], (3) Vortex, (4) [HRP200x], (5) Vortex.

△ The order of addition of those 3 reagents is critical and should be rigorously respected to get reproducible optical densities.

Prepare [HRP] according to the number of used strips, as indicated in the table below.

For example for 6 strips (48 wells): *HRP*
 60 µl [CON100x] and 30 µl [HRP200x] to 6 ml [CONBUF]. Use a Vortex mixer to homogenize.

Until its use, keep [HRP] at room temperature and avoid direct sunlight or use a brown glass vial for its preparation. The preparation of working [HRP] is not stable and must be discarded if not used.

Number of strips	Volume (µl) [CON100x]	Volume (µl) [HRP200x]	Volume (ml) [CONBUF]
1	10	5	1
2	20	10	2
3	30	15	3
4	40	20	4
5	50	25	5
6	60	30	6
7	70	35	7
8	80	40	8
9	90	45	9
10	100	50	10
11	110	55	11
12	120	60	12

Specimen

This kit is suitable for serum and plasma heparinised samples.

Serum and heparinised plasma provide similar results

If the test is not run after collection within 24 hrs, storage at -20°C is recommended. Avoid subsequent freeze-thaw cycles.

Hemolysed samples should not be used.

Annexe

Procedure

Follow the procedure exactly as described.

Procedural Notes

- P1:** Do not mix or use components with different lot numbers. Do not mix caps of vials (risk of contamination). Do not use reagents after their expiration date.
- P2:** Do not use reagents that could be contaminated or look or smell different than usual.
- P3:** Record calibrators, specimens and controls carefully on the spread sheet supplied with the kit.
- P4:** [MTP] - select the required number and place firmly in the holder.
- P5:** Run duplicates for calibrators, controls and specimens. Pipette them on the bottom in the microwells.
- P6:** Always add reagents in the same order and timing to minimise reaction time differences between wells. This is important for reproducible results. Pipetting of specimens should not exceed 20 minutes.
- P7:** Avoid/remove air bubbles prior to incubations and reading absorbance.
- P8:** [SUB] initiates and [STOP] terminates a kinetic reaction. Avoid bright light during colour development.
- P9:** [MTP] - rock gently during incubation (400 rpm) without spilling the solutions to ensure thorough mixing. If available mix on a plate shaker.
- P10:** Pipettes – use clean disposable pipette tips for addition of each reagent and sample. Avoid pipettes with metal parts for dispensation of [SUB] and [STOP].
- P11:** Prepare calibration curve for each run, do not use data from previous runs.
- P12:** Respect the incubation times.

Wash Procedure

The wash procedure is critical. Insufficient washing will result in poor precision or falsely high absorbance.

- W1:** Aspirate off the contents, add [WASH] and aspirate off again. Repeat washing twice.
- W2:** In case of automatic washers prime with [WASH] and wash strips 3 times additionally. Ensure the washer fills all wells completely and aspirates off efficiently (remaining liquid: < 15 µl).
- W3:** After washing, remove remaining liquid by tapping the plate upside down on tissue paper.

Pipetting Scheme

Reagents and specimens should be at room temperature before use.

Step 1	Well [µl]	
	A1...F2 Calibrators	G1...G3 Controls, Specimen
[CAL0], [CAL1] to [CAL5], in duplicate	25	
Specimens, Controls; in duplicate	-	25
[INCBUF]	75	75
Incubate 60 min. at 20...25°C on a shaker, see P9		
Prepare the [HRP] during the sample incubation (time required min 45 min.)		
Wash 3 times as described (see W1 - W3)		
[WASH]	350	350
Step 2		
[HRP]	100	100
Incubate 15 min. at 20...25°C on a shaker, see P9		
Wash 3 times as described (see W1 - W3)		
[WASH]	350	350
Step 3 (within 15 min after W3)		
[SUB]	100	100
Incubate 15 min. at 20...25°C on a shaker, see P9		
[STOP]	100	100
Measure the absorbance at 450 nm (reference filter 630 nm or 650 nm) within 60 min.		

Validation of the test

[CONTROL1] and [CONTROL2] are within the range specified on the vial label. *blacov*

Calculation of results

- Calculate the mean of duplicate determinations.
- The use of computer-assisted methods to construct the calibration curve is recommended. 4-parameter logistic function curve fitting is the preferred method.
- By interpolation of the OD values, determine the 25-OH Vitamin D concentrations of the samples from the calibration curve.
- Samples suspected of containing concentrations above the highest calibrator should be assayed in dilution by [CAL0].

Quality Control

Good laboratory practice requires controls to be assayed with each calibration curve. A statistically significant number of controls should be run to establish mean values and acceptable ranges to assure proper performance. Quality control samples should be run according to local regulations. The results should be within the established ranges.

Interpretation of the results

Dietary intake, origin, season, and age are known to affect the normal levels of 25-OH Vitamin D.

25 OH Vitamin D status	Expected values
Deficient	<10 ng/ml
Insufficient	10 - 29 ng/ml
Sufficient	30 - 100 ng/ml
Potential Toxicity	>100 ng/ml

Each laboratory should establish its own range based on their local population. The test is an aid in the diagnosis and is to be used in conjunction with clinical findings.

The performance of this assay has not been established in a pediatric population.

Performance Characteristics

Typical performance data can be found in the Verification Report, accessible via:

www.human.de/data/gb/vr/el-55500-2.pdf or

www.human-de.com/data/gb/vr/el-55500-2.pdf

If the performance data are not accessible via internet, they can be obtained free of charge from your local distributor.

Note

The handling should always be in compliance with common good laboratory practice requirements (*). The validation criteria must be met!

(*This includes: Proper caps being replaced on the vials and firmly tightened / Remove only reagents required for a run from stock solutions if they could come into contact with other contaminating solutions as patient specimens etc. / Stock solutions always have to be returned to 2...8°C when not in use.)

Safety Notes

[INCBUF] Danger

• Hazard statements

H360D-H362 May damage the unborn child. May cause harm to breast-fed children.

H371 May cause damage to organs.

• Precautionary statements

P260 Do not breathe dust/fume/gas/mist/vapours/spray.

P263 Avoid contact during pregnancy/while nursing.

P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection

P264 Wash thoroughly after handling.

P270 Do not eat, drink or smoke when using this protocol.

P201 Obtain special instructions before use.

P202 Do not handle until all safety precautions have been read and understood.

P308+P313 If exposed or concerned: Get medical advice/attention.

P405 Store locked up.

P501 Dispose of contents/container in accordance with local/regional/national/international regulations.

[STOP] Warning

• Hazard statements

H290 May be corrosive to metals.

H315 Causes skin irritation.

H319 Causes serious eye irritation.

• Precautionary statements

P234 Keep only in original container.

P280 Wear protective gloves/protective clothing/eye protection/face protection.

P264 Wash thoroughly after handling.

P305+P351+P338 IF IN EYES: Rinse cautiously with water for several minutes. Remove contact lenses, if present and easy to do. Continue rinsing.

P337+P313 If eye irritation persists: Get medical advice/attention.

P321 Specific treatment (see on this label).

P332+P313 If skin irritation occurs: Get medical advice/attention.

P302+P352 IF ON SKIN: Wash with plenty of water.

P362+P364 Take off contaminated clothing and wash it before reuse.

P406 Store in corrosive resistant container with a resistant inner liner.

References

1. Zerwek J.E., Blood biomarkers of Vitamin D status, Am. J. Clin. Nutr., **87**, 1087S-91S (2008)
2. Heaney R.P., Defining Deficiency of Vitamin D, Clinical Laboratory Internat, **34**, 16-19 (2010)
3. Holick M.F., Vitamin D Status: Measurement, Interpretation, and Clinical Application, Ann. Epidemiol., **19**, 73-78 (2009)
4. Holick M.F., Vitamin D Deficiency. N. Engl. J. Med., **357**, 266-281 (2007)

EL-55500

INF 55500 GB

05-2018-05M

CE
Human

Human Gesellschaft für Biochemica und Diagnostica mbH
Max-Planck-Ring 21 · 65205 Wiesbaden · Germany
Telefon +49 6122-9988-0 · Telefax +49 6122-9988-100 · e-Mail human@human.de