



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique Populaire

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



Ministère Enseignement Supérieure et le recherche scientifique

Université Docteur Moulay Tahar - Saida

جامعة مولاي الطاهر - سعيدة

Faculté des sciences

كلية العلوم

Département de Biologie

فرع البيولوجيا

**Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en Biologie**

**Spécialité : Biochimie**

**THÈME**

*Contribution à l'étude de l'effet du temps et  
de l'anti coagulant sur l'évaluation de la  
glycémie de patients de la région de Brezina  
wilaya d'El Bayadh*

**Présenté par : Amari Halima**

**Président M. Berroukche Abdelkrim**  
**Encadreur M. Loth Mustapha**  
**Examineur M. Hachem Kadda**

**Professeur U. Saida**  
**MAA U. Saida**  
**MCA U. Saida**

Année universitaire 2019-2020

Au Nom d'ALLAH le CLEMENT le MISERICORDIEUX, par sa grâce et son aide j'ai pu réaliser les rêves de mon enfance.

Je tiens remercier en premier lieu, mon encadreur Mr Loth Mustapha pour son aide, son soutien et ses précieux conseils tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Je remercie mes enseignants Pr Berroukche Abdelkrim et Dr Hachem Kadda les membres du jury pour avoir accepté de juger ce mémoire de fin d'étude.

Je remercie aussi, tous ceux qui ont contribué à l'élaboration de ce modeste travail, je citerais le personnel du laboratoire d'analyse de l'Etablissement Publics de Santé de Proximité (EPSP) Regagba Abdelrahmane, de la daïra de Brezina Wilaya d'El-Bayad.

Que soient remerciés également tous les enseignants de la faculté des Sciences, du département de BIOLOGIE ...option BIOCHIMIE

Je tiens à remercier aussi tous les membres de l'administration du département de Biologie, pour leur soutien et leur disponibilité.

Que tous ceux qui ont contribué à notre formation et à la réalisation de ce mémoire trouvent ici, l'expression de ma gratitude et de ma reconnaissance la plus sincères.

# Dédicace

Je dédie ce modeste travail aux êtres qui me sont les plus chers, et sans eux je n'aurais jamais réussi est qui sont :

- A mon cher père Mohammed qui m'a soutenu pendant toute sa vie pour que j'arrive à ce jour là.
- A celle qui m'a transmis la vie, l'amour et le courage, à toi ma très chère mère, ma fierté.
- A mon beau père Mohammed
- A ma belle mère
- Mon fiancé Nacer
- A mes oncles
- A mes frères Nourdine et Hamid, mes sœurs, aicha Rahila Khadija Saliha, a mes neveux : Rania, Mohamed, Keira, Yaakoube, Abedel- ali, Yahya, Amel, Habiba, Ahlem, Abdeljalil
- A tous mes professeurs.
- A mes amis : salima, marwa, houda, basma, sihem et toutes mes camarades de la promotion Master biochimie. A toute ma famille AMARI et ABIDI et à toutes les personnes chères à mon cœur et qui ont une place dans ma vie.
- Aux personnes qui m'ont apporté leur soutien durant mon cursus.

1	Introduction.....	k
2	Partie bibliographique.....	3
2.1	Importance des analyses hématologiques en médecine .....	4
2.2	Généralités sur la glycémie .....	4
2.3	Le glucose et son métabolisme.....	5
2.3.1	Le glucose .....	5
2.3.1.1	Définition .....	5
2.3.1.2	Schéma biochimique du glucose.....	5
2.3.1.3	Métabolisme du glucose .....	6
2.3.1.3.1	La glycolyse.....	6
2.3.1.3.2	La voie des pentoses phosphates .....	7
2.3.1.4	Régulation du métabolisme glucidique.....	7
2.3.1.4.1	Auto régulation .....	7
2.3.1.4.2	Régulation endocrinienne .....	7
2.3.1.4.2.1	Système hypoglycémiant .....	7
2.3.1.4.2.2	Système hyperglycémiant .....	7
2.3.1.4.3	Régulation nerveuse .....	8
2.3.1.4.4	Régulation hépatorénale .....	8
2.3.1.4.4.1	Absorption passive .....	8
2.3.1.4.4.2	Absorption active .....	8
2.3.1.4.5	Régulation de la sécrétion.....	8
2.4	L'insuline .....	9
2.4.1	Définition .....	9
2.4.2	Synthèse .....	9
2.4.3	Sécrétion.....	9
2.4.4	Métabolisme .....	9
2.4.5	Rôle de l'insuline .....	9
2.4.6	Propriétés physiologiques de l'insuline sur l'organisme.....	9
2.5	Le glucagon.....	10
2.6	Les troubles métabolique du glucose .....	10
2.6.1	L'hyperglycémie .....	10
2.6.2	L'hypoglycémie .....	10
2.6.2.1	La manifestation de l'hypoglycémie.....	10

2.7	2-5 Pathologies associées aux troubles métabolique du glucose .....	11
2.7.1	Le diabète .....	11
2.7.1.1	Définition du diabète.....	11
2.7.1.1	Symptômes du diabète .....	11
2.7.1.2	Epidémiologie du diabète.....	12
2.7.1.2.1	Répartition du diabète dans le monde.....	12
2.7.1.2.2	Le diabète en Algérie.....	13
2.7.1.3	Diagnostic biologique du diabète sucre .....	14
2.7.1.4	Classification différents diabètes .....	14
2.7.1.5	Le diabète sucré .....	15
2.7.1.5.1	Le diabète insulindépendant .....	15
2.7.1.5.2	Le diabète non insulindépendant .....	15
2.7.1.6	Traitement et thérapie du diabète.....	15
2.7.1.6.1	Administration par injection d'insuline .....	15
2.7.1.6.2	Administration par comprimés pour le diabète de type 2.....	16
2.8	Evaluation de la glycémie en laboratoire d'analyse hématologique.....	16
2.8.1	La glycémie .....	16
2.8.1.1	Définition .....	16
2.8.1.2	Intérêt de la glycémie.....	16
2.8.1.3	Globule rouges glycémie et glycolyse .....	17
2.8.1.3.1	Globules rouges .....	17
2.8.1.3.2	Maturation des globules rouges et métabolisme.....	17
2.8.2	Prélèvement de sang pour dosage de la glycémie .....	17
2.8.3	Conservation du sang pour dosage de la glycémie .....	17
2.8.4	Valeurs usuelles.....	18
2.8.5	Variations physiologiques .....	18
2.8.6	Cycle glycémique .....	18
2.8.7	Les méthodes de dosage de la glycémie.....	18
2.8.8	Les méthodes de dosage de la glycémie en laboratoire d'hématologie .....	19
2.8.8.1	Les méthodes enzymatiques utilisées pour le dosage du glucose.....	19
2.8.8.1.1	Méthode a la glucose-oxydase-peroxydase .....	19
2.8.8.1.2	Méthode au glucose déshydrogénase .....	19
2.8.8.1.3	Méthode a l'hexokinase.....	20

2.8.9	Le prélèvement sanguin .....	20
2.8.9.1	Technique de prélèvement .....	20
2.8.10	Conservation du sang prélevé .....	20
2.8.10.1	Conteneur de conservation.....	21
2.8.10.1.1	Le tube sec .....	21
2.8.10.1.2	Le tube hépariné .....	21
2.8.10.1.2.1	Nature chimique de heparine .....	21
2.8.10.1.2.2	Description d'héparine de lithium .....	22
2.8.10.1.2.3	Rôle de l'héparine .....	22
2.8.10.2	Lieu de conservation des prélèvements .....	23
2.8.10.3	Le temps de conservation.....	23
2.9	Les valeurs usuelles obtenues par différentes techniques d'analyses.....	24
2.10	Valeurs pathologiques de la glycémie.....	24
3	Matériel et méthodes.....	25
3.1	Présentation de l'établissement d'accueil .....	26
3.2	Durée du stage.....	26
3.3	Echantillonnage.....	26
3.4	Matériel .....	26
3.4.1	Matériel de prélèvement sanguin .....	26
3.5	Matériel de conservation .....	26
3.6	Matériel d'analyse.....	26
3.6.1	Les appareils.....	26
3.6.1.1	Le spectrophotomètre.....	26
3.6.1.2	L'incubateur .....	27
3.6.1.3	La centrifugeuse.....	27
3.7	Matériel de dosage .....	27
3.8	Méthodes .....	27
3.8.1	Technique de prélèvement sanguin .....	27
3.8.2	Conditions de conservation du sang prélevé .....	28
3.8.3	Dosage du glucose plasmatique .....	28
3.8.3.1	Principe .....	29
3.8.4	Mode opératoire .....	30
4	Résultats et discussion .....	31

4.1	Résultats du premier prélèvement .....	32
4.2	Résultats du second prélèvement .....	33
4.3	Etude statistique de la population.....	34
4.3.1	Répartition de l'échantillon étudié selon le sexe du patient.....	34
4.4	Répartition de l'échantillon étudié selon l'âge du patient.....	35
4.5	La prévalence du diabète dans l'échantillon étudié.....	36
4.6	La prévalence du diabète dans La tranche d'âge 21-40 ans .....	36
4.7	La prévalence du diabète dans diabète selon sexe du patient.....	37
4.8	Effet de l'anticoagulant et du temps sur l'évaluation de la glycémie .....	38
4.8.1	Utilité et choix du test statistique .....	38
4.8.1.1	Pourquoi utiliser des tests statistiques ?.....	38
4.8.1.2	Le « TEST.STUDENT » sous Microsoft Excel.....	39
4.8.1.3	Progression logique du test de Student pour échantillons appariés appliqué a notre étude .....	39
4.8.1.3.1	Exemple illustratif de la progression logique du test de Student pour échantillons appariés appliqué à notre étude.....	41
4.8.1.4	Résultats obtenus après application du test de student .....	42
4.9	Discussion des résultats obtenus concernant la stabilité de la glycémie pendant trois heurs avec ou sans anticoagulant.....	43
4.9.1	Résumé des travaux de Akpovi et al., 2014 et confrontation avec nos résultats 44	
4.9.2	Résumé des travaux publié par WHO, 2002 et confrontation avec nos résultats 45	
5	Conclusion .....	48
6	Annexes.....	49
7	Références bibliographiques .....	53

## Liste des tableaux

Tableau 01 : Techniques de dosage et valeurs usuelles obtenues par différentes techniques d'analyses.....	24
Tableau 02 : Composition du réactif utilisé (Notice Biosystems) .....	30
Tableau 03 : Répartition des trois tubes utilisés pour chaque patient. ....	30
Tableau 04 : Valeurs de la glycémie de vingt patients obtenus à 08h :30 sur tube hépariné et tube sec, exprimées en g/L. (H: homme F: femme). ....	32
Tableau 05 : Valeurs de la glycémie de vingt patients obtenus à 11h :30 sur tube hépariné et tube sec, exprimées en g/L. (H: homme F: femme ). ....	33
Tableau 06 : Répartition de l'échantillon étudié selon le sexe. ....	34
Tableau 07 : Répartition de la population de la wilaya d'El Bayadh, ainsi que la population national par sexe avec leurs pourcentages respectifs. ....	34
Tableau 08 : Répartition de l'échantillon étudié selon l'âge des patients. ....	35
Les comparatifs entre les glycémies des tubes secs et hépariné ont été réalisé comme suit :.	40
Tableau 09 : Paires utilisé pour réaliser le test de student pour échantillon appariés .....	40
Tableau 10 : But recherché dans chaque paire utilisé pour réaliser le test de student pour échantillon appariés. ....	40
Tableau 11 : Résultat du Test de Student pour les quatre test réalisés.....	41

## Liste des figures

Figure 01 : Schéma représentation du D-glucose et du L-glucose.....	5
Figure 02 : Organigramme résumant le métabolisme du glucose.....	6
Figure 03 : Actions générales de l'insuline sur l'organisme. (Breuval, 2019).....	9
Figure 04 : Nombre estimé de personnes atteintes de diabète à travers le monde en 2017 et 2045 (20-79 ans) (Atlas du Diabète de la FID – 8e édition. 2017. In Breuval, 2019).....	13
Figure 05 : Photographie d'un stylo a insuline .....	15
Figure 06 : Appareil d'autocontrôle de la glycémie.....	18
Figure 07 : Structure de l'héparine.....	22
Figure 08 : Réactions chimique permettant l'évaluation du taux de glucose par la méthode enzymatique à la glucose oxydase couplée à la réaction de Trinder (1969) à la peroxydase représentation Littéraire des molécules. ....	29
Figure 09 : Réactions chimique permettant l'évaluation du taux de glucose par la méthode enzymatique à la glucose oxydase couplée à la réaction de Trinder (1969) à la peroxydase, représentation par formules chimiques des molécules. (Coutinho et <i>al.</i> ,2017) .....	29
Figure 10 : Représentation graphique en portion du pourcentage de l'échantillon étudié, répartis selon le sexe du patient.....	34
Figure 11 : Représentation graphique en portion du pourcentage de l'échantillon étudié, répartis selon l'âge du patient.....	35
Figure 12 : Variation de la glycémie en tube sec et en tube fluoré en fonction du temps (Akpovi et al., 2014) .....	44
Figure 13 : Corrélation entre glycémie mesurée dans le sérum et dans le plasma fluoré (Akpovi et al., 2014). ....	44
Figure 14 : Stabilité du glucose sanguin selon (WHO, 2002).....	46
Figure 15 : Quelques paramètres instables en biochimie. (Odozo et al., 2012).....	47

## Liste des abréviations et acronymes

Abréviation/Acronyme	Signification
°C	Degré Celsius
A.C.T.H	Corticotropine
A.D.A	l'Association américaine du diabète
ATP	Adénosine triphosphate
E.P.S.P	Etablissement Publics de Santé de Proximité
EDTA	Éthylènediaminetétraacétique
F.I.D	Fédération Française des Diabétiques
g	Gramme
G.B.D	Global Burden of Disease
g/L	Gramme par litre
GAG	Glycosaminoglycane
GAG	Glycosaminoglycane
GB	Globule blanc
GH	L'hormone de croissance (somatotropine)
GOD	Glucose oxydase
GR	Globule rouge
I.N.S.P	Institut National de Santé Publique
IV	Intra veineuse
Kg	Kilogramme
L	Litre
MGG	Méthode de coloration May-Grünwald Giemsa
mmol	Milli-mole
NAD	Nicotinamide adénine dinucléotide
O.M.S	Organisation mondiale de la santé
POD	Peroxydase
T4	Thyroxine
UI	Unité International
VS	Vitesse de sédimentation

# 1 Introduction

La médecine du XXI<sup>ème</sup> siècle explore de grands domaines du corps humain. Armée de microscopes, d'automates de biochimie et d'hormonologie, de scanner et de bien d'autres appareils et machines. Elle réalise des examens et des tests qui guident les médecins dans leurs diagnostics, mais aussi dans le dépistage la prévention, le suivi des résultats des thérapies prescrites a leurs patients.

En effet la médecine moderne s'appuie de plus en plus sur les examens paracliniques d'imagerie (radiographie et tomographie traditionnelles, tomographie informatisée ou « scanner », échographie ultrasonore et imagerie par résonance magnétique) et de biologie multidisciplinaire. (Valdiguié, 2000)

Parmi cette panoplie de moyens mis à la disposition de la médecine la place de la biologie de l'hématologie et de la biochimie dans l'examen médicale n'est plus à faire.

La biologie médicale est la branche de la médecine qui vise à effectuer et interpréter des analyses sur des liquides ou prélèvements humains, dans le but de caractériser ou de suivre une maladie.

Les analyses biochimiques et hématologiques sont d'une importance capitale dans le dépistage, le diagnostic et le suivi des malades. Il s'agit des examens très souvent demandés en pratique médicale. (Siby, 2008) ; (Bouali et Menad, 2018)

L'acte de biologie médicale s'inscrit dans une démarche préventive, diagnostique, pronostique et thérapeutique. Le biologiste assure la responsabilité de cet acte qui inclut le prélèvement, l'exécution de l'analyse, la validation des résultats, et si nécessaire leur confrontation avec les données cliniques et biologiques des patients. (...) Ces résultats concourent au diagnostic et à la prescription des soins. (Bouali et Menad, 2018)

Les analyses hématologiques sont pratiquées sur le sang pour permettre le diagnostic ou le suivi de certaines maladies. (Bouali et Menad, 2018)

Il est impératif que l'état in vivo d'un constituant reste inchangé après le retrait du fluide corporel d'un patient pour obtenir un résultat de laboratoire médical valide. Cela n'est pas toujours possible lors de la mesure des composants extracellulaires et cellulaires du sang. Les plaquettes et les facteurs de coagulation sont activés lorsque les vaisseaux sanguins sont perforés, et leur activation se poursuit dans des récipients d'échantillons qui ne contiennent pas d'anticoagulant. (WHO, 2002)

Notre présente étude s'intéresse à l'effet du temps (délai entre le prélèvement et le dosage) et de l'anti coagulant (héparine) sur l'évaluation de la glycémie de patient dans la région de Brezina wilaya d'El Bayadh.

Notre travail s'inscrit dans l'élan national (mais aussi international) de la prévention contre le diabète.

L'évaluation de la glycémie est une analyse biochimique très courante et dont le processus analytique est très maîtrisé.

Logiquement, le processus analytique se déroule en trois grandes étapes distinctes et enchaînées dans le temps dont l'une influence l'autre : la phase préanalytique, la phase analytique et post-analytique. (Idrissi Oudghiri, 2012)

L'effet du temps et de l'anti coagulant sur l'évaluation de la glycémie s'insère dans la phase pré-analytique.

Cette phase est une étape importante au laboratoire, qui a des répercussions sur la phase analytique et la phase postanalytique. (Idrissi Oudghiri, 2012)

En effet, la phase pré-analytique représente 57% du temps utilisé (20% hors laboratoire et 37% dans le laboratoire), elle est à l'origine de 85% des erreurs et dysfonctionnements qui affectent les résultats des analyses. ([Ruchet, 2008] in Idrissi Oudghiri, 2012)

La problématique qui nous a incités à choisir ce thème est double, elle peut être résumée comme suit :

- Primo : très souvent après un prélèvement sanguin pour évaluer la glycémie (ou tout autre paramètre d'intérêt médicale) chez un patient, les tubes contenant le sang prélevé sont placés sur la paillasse à la température ambiante du laboratoire. Un laps de temps (plus ou moins long selon le nombre d'analyses réaliser par le technicien de laboratoire) s'écoule entre le prélèvement de sang et l'évaluation de la glycémie (ou tout autre paramètre). Ce temps écoulé a-t-il ou non un effet sur la valeur de la glycémie ? Le résultat obtenu n'est il pas biaisé ?

- Secundo : le sang ainsi placé dans les tubes a essais subit les effets des facteurs de l'hémostase et coagule. La seconde question qui c'est posé a nous est de savoir si la coagulation a ou non un effet sur la valeur de la glycémie ? Le résultat obtenu n'est il pas biaisé ? l'ajout d'un anticoagulant a-t-il ou non un effet sur la valeur de la glycémie ?

On se propose dans ce modeste travail à évaluer les valeurs de la glycémie chez vingt patients habitants la région de Brezina wilaya d'El Bayadh. La glycémie est évaluée sur tube sec et tube hépariné un premier temps puis un deuxième temps, trois heurs sépare les deux prélèvements.

Le but est d'estimer l'effet du temps écoulé entre le moment du prélèvement le moment de l'évaluation de la glycémie (3h), sur la valeur de la glycémie. En outre on estimera aussi l'effet de la coagulation sur l'évaluation de ce paramètre incontournable dans le dépistage et le suivi d'une maladie chronique en pleine évolution en Algérie : le diabète.

Notre travail s'inscrit dans cette stratégie nationale et internationale de prise en charge des malades atteint de maladies chroniques telles que le diabète. Nous espérons que notre modeste travail contribuera à l'amélioration de la biologie médicale dans notre pays, et contribuera à la bonne prise en charge des diabétiques.

## **2 Partie bibliographique.**

## **2.1 Importance des analyses hématologiques en médecine**

L'hématologie est la spécialité de la médecine qui s'occupe du sang, ses composants, et ses maladies. L'hématologie est la spécialité médicale qui étudie le sang, les organes hématopoïétiques (la moelle osseuse, les ganglions lymphatiques et la rate étant les principaux) et leurs maladies ....et les plaquettes, qui sont responsable de la coagulation du sang et permettent l'arrêt des saignements. Donc l'hématologie s'intéresse à la prise en charge, de la prévention, du diagnostic et du traitement des maladies du sang.

## **2.2 Généralités sur la glycémie**

La glycémie correspond au taux de sucre dans le sang, ce type de sucre est appelé glucose (alpha, béta glucopyranose) substrat hydrosoluble constitue la principale énergie de la cellule, il est apporté à l'organisme par l'alimentation sous une forme généralement complexe :

Polysaccharide (saccharose, amidon) ou disaccharide (saccharose, lactose, maltose) ces dernier dégradés au niveau de la cavité buccale sous réaction d'enzyme salivaire dans l'estomac par hydrolyse acide (enzyme de suc digestif appelé amylase pancréatique)

Au niveau du tube digestif l'absorption du glucose est de type transport actif avec consommation d'énergie, une fois entré dans la circulation.

Le foie produit du sucre à partir des glucides qu'il a stocké au moment du repas et à partir d'autres nutriments comme les lipides ou les protéines, le glucose circulant est capté par les cellules des différents organes. En cas de besoins énergétiques, il y a mobilisation de glycogène ou biosynthèse de glucose —figure 1—

Chez le sujet sain tous les facteurs régulateurs maintiennent le glucose, à un taux constant quelque soit les circonstances réalisant ainsi l'hémostase glycémique cette régulation est extrêmement complexe, elle fait intervenir :

- des enzymes hépatiques régulatrices.
- des substrats métaboliques intermédiaires (ATP, citrate, glucose-6-phosphate, O<sub>2</sub>, AMP)
- des hormones d'adaptation rapide
- l'hormone hypoglycémisante : l'insuline
- une hormone hyperglycémisante : le glucagon

Le taux de glycémie est le reflet du métabolisme de chaque cellule et sa détermination devrait permettre de détecter un dérèglement intracellulaire de ce substrat vital.

## 2.3 Le glucose et son métabolisme

### 2.3.1 Le glucose

#### 2.3.1.1 Définition

Les glucides sont des molécules organiques dont les carbones sont porteurs de fonction alcools (alcool secondaire, alcool primaire), d'une fonction aldéhyde ou cétonique (fonction carbonyle) et parfois d'une fonction acide ou aminée.

Le glucose est un glucide (sucre) simple stocké dans notre organisme sous forme de glycogène. Le glucose est transporté dans le sang, on peut mesurer la quantité de glucose dans le sang avec une mesure de la glycémie.

Le glucose est un substrat énergétique essentiel, voire indispensable pour certains tissus. Or peu d'entre eux peuvent en produire et leurs capacités de stockage sont limitées. En revanche, tous les tissus possèdent des transporteurs pour importer le glucose à partir du sang. (Vaubourdolle, 2007)

#### 2.3.1.2 Schéma biochimique du glucose

Le glucose est un monosaccharide composé de six atomes de carbone, le métabolisme des glucides est dominé par celui du glucose qui est une grande source d'énergie pour toutes les cellules de l'organisme.

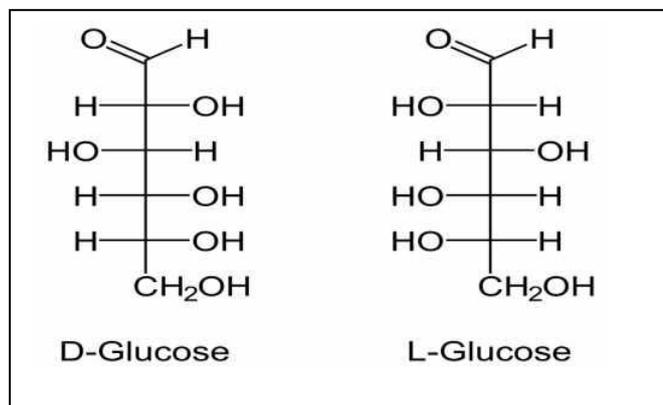


Figure 01 : Schéma représentation du D-glucose et du L-glucose

### 2.3.1.3 Métabolisme du glucose

La figure suivante résume le métabolisme du glucose

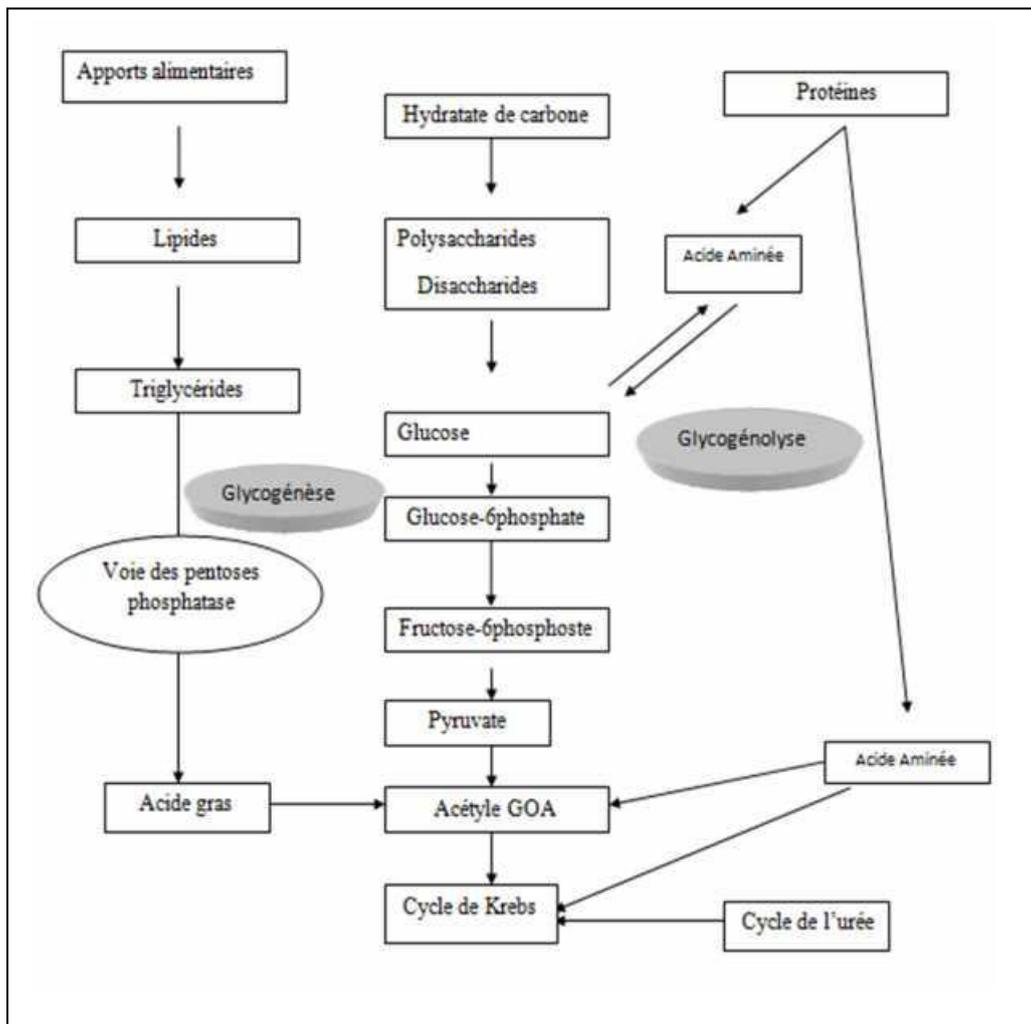


Figure 02 : Organigramme résumant le métabolisme du glucose

#### 2.3.1.3.1 La glycolyse

Une voie d'Embden- Meyerhof-pamas est une voie métabolique d'assimilation du glucose et de production d'énergie, elle se déroule dans le cytoplasme de cellule comme son nom l'indique, elle nécessite du glucose et pour produire de pyruvate. Ce dernier peut soit entrer dans le cycle de Krebs qui se déroule dans la mitochondrie, des eucaryotes ou le cytoplasme des bactéries en aérobiose pour produire par exemple de la lactase ou de l'éthanol.

La glycolyse est un mécanisme de régénération d'ATP qui ne nécessite pas l'oxygène.

À la cour du processus, on assiste à :

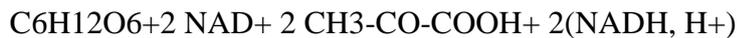
Des réactions d'oxydoréductions au cours desquelles un accepteur d'électrons (coenzyme NAD) est réduit :



- Des synthèses d'ATP par phosphorylation de l'ADP (formation de 4 molécules d'ATP).

- La glycolyse se traduisant par la réduction de coenzymes, elle s'accompagne donc de l'oxydation de molécules organismes.

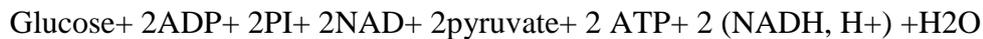
- On peut dire qu'elle correspond à l'oxydation du glucose en pyruvate :



**Couple à :**



Soit au total :



### ***2.3.1.3.2 La voie des pentoses phosphates***

La voie de Warburg Dickens Honecker est l'une des quatre voies principales du métabolisme énergétique avec la glycolyse, la voie d'Enetner –doudoroff de dégradation du glucose en pyruvate et la voie de la Methyleglyoxal

Glucose en pyruvate et la voie du Methyleglyoxal, Henri laborit met en évidence le rôle de la Voie de pentose en radio et oxygéno-protection et des radicaux libres en pathologie.

Les rôles essentiels de cette voie sont :

- La production de molécules de NADPH, H<sup>+</sup>, utilisées lors de la synthèse des gras, du cholestérol et pour réduction du glutathion;
- La production de ribose-5-phosphate utilisé lors de la synthèse des nucléotides;
- La production d'erythrose-4-phosphate, précurseur d'acides aromatiques : phénylalanine, tyrosine et tryptophane. (Pierre Camoin, 1997)

### **2.3.1.4 Régulation du métabolisme glucidique**

#### ***2.3.1.4.1 Auto régulation***

Ce phénomène tend à maintenir un taux de glucose sanguin toujours supérieur à un seuil rénal d'élimination par deux processus:

- Processus de charge par rapport à l'alimentation et au stockage (glycogénèse).
- Processus de décharge, la glycogénolyse et autre par la fonction rénale 1,8g/l. le rein commence à éliminer le glucose.

#### ***2.3.1.4.2 Régulation endocrinienne***

On distingue deux systèmes :

##### **2.3.1.4.2.1 Système hypoglycémiant**

La régulation hormonale de la glycémie est constituée par l'insuline sécrétée par les cellules B des îlots de Langerhans du pancréas.

Sa sécrétion est déclenchée par l'élévation de la glycémie Pour accélérer la pénétration du glucose dans les cellules.

##### **2.3.1.4.2.2 Système hyperglycémiant**

###### **2.3.1.4.2.2.1 Le glucagon**

- Principale hormone hyperglycémiant;
- Polypeptide de 29 AA
- Sécrété par les cellules  $\alpha$  des îlots de Langerhans;
- Favorise la glycogénolyse et la néoglucogénèse hépatique;
- Augmente la cétogénèse et la lipolyse

#### 2.3.1.4.2.2.2 Le cortisol

- Stéroïde sécrété par le cortex surrénalien;
- Augmente la néoglucogenèse au dépend des protéines.

#### 2.3.1.4.2.2.3 L'adrénaline

- Mécanisme d'urgence (baisse rapide).
- Favorise la glycogénolyse et la lipolyse.
- Inhibe l'entrée du glucose dans les tissus périphériques.

#### 2.3.1.4.2.2.4 L'hormone de croissance GH :

- Diminue la pénétration du glucose dans les cellules.

#### 2.3.1.4.2.2.5 Les hormones thyroïdiennes(T4) :

- Augmente l'entrée du glucose intestinal dans la circulation.
- Possède une action hyperglycémiant limitée.
- A.C.T.H : favorise la sécrétion du cortisol qui a un effet anti insulinique.
- S .T.H : c'est une hormone diabétogène.

### **2.3.1.4.3 Régulation nerveuse**

Si le pancréas est sensible à l'hyperglycémie, l'hypothalamus l'est à l'hypoglycémie, il réagit en provoquant indirectement la libération de toute une série d'hormones plus ou moins hyperglycémiantes

### **2.3.1.4.4 Régulation hépatorenale**

Le foie et le rein ont un rôle dans le contrôle de la glycémie. Par la présence d'une enzyme appelée glucose 6phosphatase le foie intervient dans la glycogénolyse et glycogénolyse, on voit deux types d'absorption :

#### **2.3.1.4.4.1 Absorption passive**

La quantité absorbée est déterminée par la concentration des oses dans la lumière intestinale.

#### **2.3.1.4.4.2 Absorption active**

Le passage du glucose de l'intestin grêle vers le sang nécessite de l'énergie, il sera véhiculé par le sang jusqu'au foie puis au niveau des tissus, au niveau de la cellule hépatique, l'insuline agit sur un récepteur membranaire, on voit le passage du glucose vers le cytoplasme de la cellule et il se métabolise.

### **2.3.1.4.5 Régulation de la sécrétion**

Se fait sous la dépendance de multiples facteurs :

- Métabolique : glucose, lipide, protide.
- Hormonal : glucagon, hormones digestives
- Neuro-hormonaux : adrénaline noradrénaline, nerf, vague.

## 2.4 L'insuline

### 2.4.1 Définition

C'est une hormone sécrétée par le pancréas. Son rôle est mettre en réserve le substrat énergétique circulant elle est constituée de deux chaînes polypeptide.

### 2.4.2 Synthèse

Les cellules des îlots de Langerhans sous l'effet du glucose circulant, s'activent et sécrètent une pro insuline constituée d'une seule chaîne polypeptide, puis elle est coupée en 2 parties : L'insuline et le peptide C qui est stocké dans la cellule sous forme de granules prêts à être excrétés en libérant ainsi l'insuline et peptide C. Donc il ya un stockage de l'insuline dans des cellules.

### 2.4.3 Sécrétion

Stimuler par le taux de glucose circulant.

- une 1<sup>ère</sup> libération précoce représentant les granules de stockage.
- une 2<sup>ème</sup> libération plus tardive prolongée correspondant à la synthèse de nouveaux granules d'insuline, par cellule de pancréas.

### 2.4.4 Métabolisme

L'insuline libérée par les granules de cellule B circule sous forme libre dans le sang, elle est utilisée au niveau de organe cibles puis dégradée par le foie et le rein (le pancréas en cas de grossesse).

### 2.4.5 Rôle de l'insuline

Elle règle la mise en réserve ou la mise en circulation des substrats énergétique selon le Besoins. En phase de jeune, a partir de réserve ou le taux d'insuline diminue pour permettre la libération du glucose dans le sang, dans le période post prandiale, le taux d'insuline augmente pour permettre la réserve de glucose.

### 2.4.6 Propriétés physiologiques de l'insuline sur l'organisme

L'insuline a des effets multiples sur l'organisme, elle intervient à la fois sur le métabolisme des glucides, des lipides et des protéides, essentiellement au niveau du foie, du tissu adipeux et du muscle. (...) Les actions générales de l'insuline sont résumées dans la **Figure 03**.

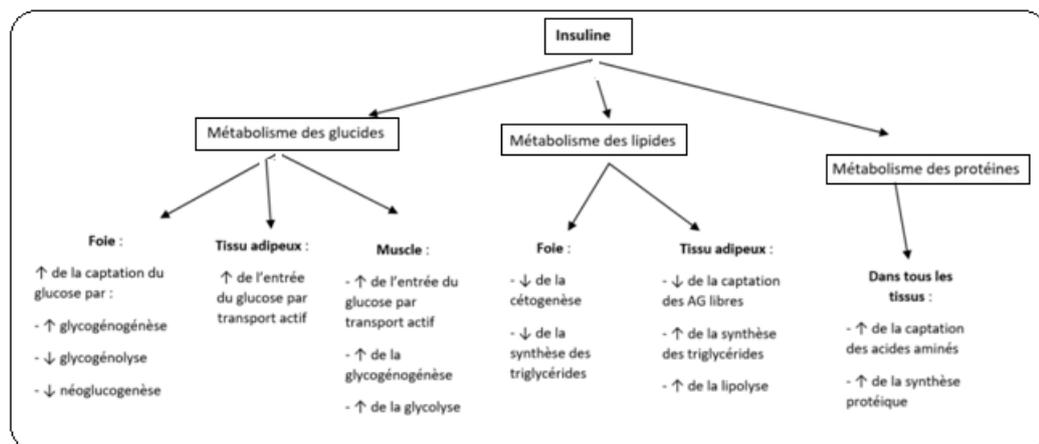


Figure 03 : Actions générales de l'insuline sur l'organisme. (Breuval, 2019)

## **2.5 Le glucagon**

Comme l'insuline son action porte sur les tissus périphériques et sur le foie.

Au niveau de tissus périphérique, le glucagon a un rôle lipolytique permettant la Mobilisation des acides gras libres.

Au niveau de foie il augmente la néoglucogenèse, la glycogénolyse et la cétogenèse.

Donc le glucagon est une hormone catabolisant, lipolitique et glycogénolytique. Il à un rôle vital dans le maintien de la production énergétique hépatique dans la période inter prandiale, sa sécrétion est stimulé : Par l'hypoglycémie ou par la baisse de la concentration glucosée a l'intérieur de la cellule.

## **2.6 Les troubles métabolique du glucose**

### **2.6.1 L'hyperglycémie**

Le diabète sucré est défini par un désordre métabolique d'étiologies diverses caractérisé par la présence d'une hyperglycémie chronique accompagnée d'une perturbation des métabolismes glucidique, lipidique et protéique, résultant d'un défaut de la sécrétion d'insuline, de son activité ou des deux associés

L'insuline est une hormone fabriquée dans le pancréas, qui permet au glucose contenu dans les aliments de pénétrer dans les cellules de l'organisme, ou il est transformé en énergie nécessaire au bon fonctionnement des muscles et des tissus. Chez une personne atteinte de diabète, le glucose n'est pas absorbé correctement et continue de circuler dans le sang, (trouble connu sous le nom d'hyperglycémie), endommageant ainsi peu à peu les tissus. Ces dommages peuvent entrainer des complications Invalidantes mettant la vie de la personne en danger.

Selon le taux de sucre dans le sang à jeun, on parlera d'hyperglycémie modérée (entre 1,10 g/L et 1,25 g/L), d'intolérance au glucose ou pré-diabète (lorsqu'on approche des 1,26 g/l) ou de diabète.

### **2.6.2 L'hypoglycémie**

L'hypoglycémie est une concentration en glucose dans le sang ' glycémie ' anormalement basse. Les valeurs de glycémie habituellement retenues pour le diagnostic Diagnostic sont <0.50 g/l chez le non diabétique et <0.60 chez le diabétique

#### **2.6.2.1 La manifestation de l'hypoglycémie**

- Troubles digestifs.
- Les troubles cardio-vasculaires
- Les accidents neurologiques
- Les troubles généraux et vasomoteurs
- Confusion, incapacité de se concentrer
- Faiblesse, somnolence
- Engourdissement ou picotements de la langue ou des lèvres

## **2.7 2-5 Pathologies associées aux troubles métabolique du glucose**

Le glucose est le monosaccharide le plus abondant et le plus important.

Il pénètre les cellules par le biais d'une famille de transporteur membranaires appelées GLUTs. En effet, du fait de sa structure polaire, le D-glucose doit être porté par une protéine pour passer les membranes biologiques. Au nombre d'une quinzaine divisée en 3 classes, les GLUTs sont exprimées selon le type cellulaire. Le déficit en GLUT1 provoque des crises convulsives, une microcéphalie et retard mental. La sécrétion de l'insuline par les cellules beta des îlots de Langerhans du pancréas augmente ATP intracellulaire qui active un canal potassique octamérique (KATP) associées 4 sous unités protéiques régulatrices SUR1 (ABCC8) et 4 sous unités canalaire Kir6.2 (KCNJ11).

Les anomalies du canal potassique liées à ATP ABCC8 et KCNJ11 provoquent des anomalies en fonction du caractère activateur ou in activateur des mutations.

Mutation activateur -----une baisse d'insulinosécrétion, une augmentation de glycémie et un diabète type 2

Mutation in activateur -----hypoglycémie grave du nouveau-né et de jeune nourrisson

Augmentation du risque de diabète associée à obésité pourrait être due à augmentation des taux de lipides dans les cellules du foie et des muscles squelettiques

### **2.7.1 Le diabète**

#### **2.7.1.1 Définition du diabète**

Le diabète est une maladie chronique qui survient lorsque le pancréas ne produit pas suffisamment d'insuline ou lorsque le corps ne peut pas utiliser efficacement l'insuline qu'il produit, ce qui entraîne une augmentation de la glycémie. (Takoua, 2019)

Le diabète est donc une affection chronique liée à un trouble du métabolisme des glucides en rapport avec une carence absolue ou relative en insuline. (Baâli et Delloum, 2010)

Selon l'organisation mondiale de la santé, un patient est diagnostiqué diabétique dès lors qu'il présente deux glycémies à jeun supérieures à 1.26 g/L, qu'une glycémie sur plasma veineux deux heures après ingestion de 75g de glucose (test d'hyperglycémie provoquée par voie orale : HGPO) est supérieur ou égale à 2,00 g/L, ou encore qu'une mesure de l'hémoglobine glyquée est supérieure à 6,5 % (WHO, 2012 in Baalbaki, 2012).

#### **2.7.1.1 Symptômes du diabète**

Les symptômes classiques sont: une polyurie, une polydipsie et une perte de poids. Ils peuvent être même inexistantes au début et le diagnostic ne sera posé que plusieurs années après l'apparition de la maladie, alors que les complications existent déjà. (Baâli et Delloum, 2010)

### **2.7.1.2 Epidémiologie du diabète**

Dans une étude de 216 pays, la Fédération Française des Diabétiques (FFD) a conclu que près de quatre millions de décès dans un groupe des 20 à 79 ans peuvent être diabétiques en 2010, ce qui représente 6,8% de la mortalité globale dans ce groupe d'âge. (Takoua, 2019)

#### ***2.7.1.2.1 Répartition du diabète dans le monde***

171 millions de personnes dans le monde souffraient de diabète, en 2000. (Takoua, 2019)

Les estimations mondiales du diabète estiment qu'en 2010 plus que 285 millions d'adultes vivaient avec une certaine forme de diabète dans le monde, et que le nombre des personnes atteintes de diabète dans le monde devraient augmenter à 472 millions d'ici 2030, ce qui fait du diabète l'une des plus grandes urgences sanitaires mondiales du 21<sup>ème</sup> siècle. (Takoua, 2019)

Selon la FID (Fédération International de Diabète) [Atlas de la FID 2015], plus de 415 millions de personnes dans le monde vivent avec le diabète (8.8% de la population adulte mondiale), soit un adulte sur onze est atteint de diabète dans la population mondiale, dont 193 millions de personne non diagnostiqués. (Ouhaibi-Djellouli, 2017)

Les prévisions des instances internationales sont alarmantes :

D'ici à 2030, le nombre de personnes atteintes de diabète dans la région du Moyen-Orient devrait passer de près de 33 millions (aujourd'hui) à presque 60 millions. (Takoua, 2019)

Prévision : en 2030, le diabète sera la 7<sup>ème</sup> cause de décès dans le monde. Le diabète est une cause majeure de cécité, d'insuffisance rénale, d'accidents cardiaques, d'accidents vasculaires cérébraux et d'amputation des membres inférieurs. Rappelons qu'un régime alimentaire sain, une activité physique régulière, un dépistage régulier, la bonne observance des traitements et la prise en charge des possibles complications permettent de retarder les conséquences de cette maladie.

Le diabète est une des plus grandes crises de santé mondiale du XXI<sup>e</sup> siècle. Chaque année, de plus en plus de personnes développent cette maladie. Selon les estimations de la Fédération internationale du diabète (FID), 425 millions de personnes sont atteintes de diabète. On estime qu'en 2045 ce chiffre sera porté à 629 millions (cf figure 04).

Il est a noté que ces chiffres sont loin d'être exacte, car selon l'OMS et de la FID : 193 millions de personnes ignorent qu'elles sont atteintes de diabète dans le monde (estimation de 2016).

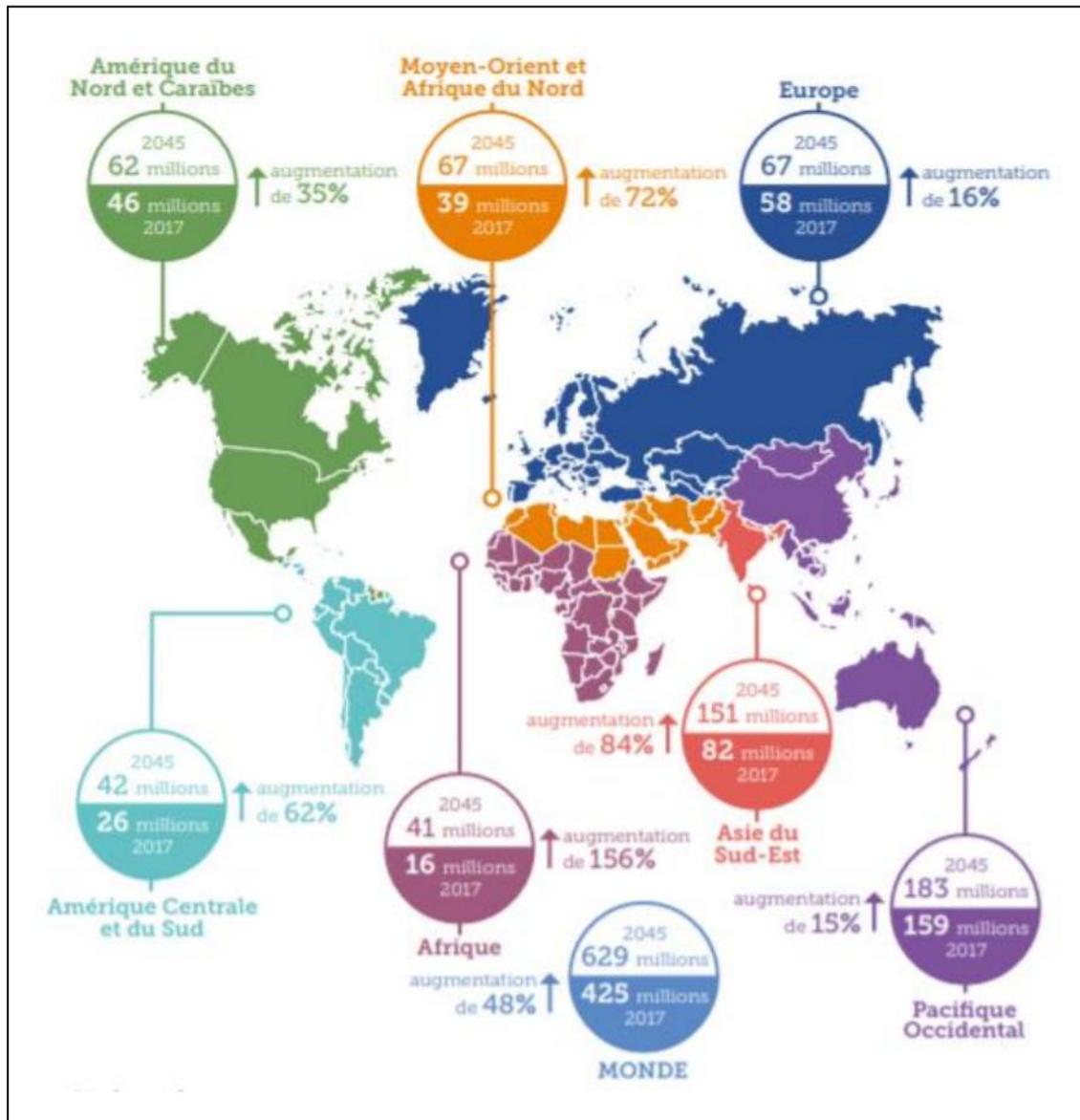


Figure 04 : Nombre estimé de personnes atteintes de diabète à travers le monde en 2017 et 2045 (20-79 ans) (Atlas du Diabète de la FID – 8e édition. 2017. In Breuval, 2019)

### 2.7.1.2.2 Le diabète en Algérie

L'Algérie ainsi que ses voisins pays arabes ne diffèrent pas du reste des pays du monde. Ainsi le diabète dans le Golfe constitue un défi régional. Les pays du Golfe tels que le Koweït, le Qatar, l'Arabie Saoudite et Bahreïn figurent tous dans les dix premiers pays de la prévalence du diabète dans le monde. Par conséquent, trouver un processus de gestion efficace pour cette maladie est très important. (Takoua, 2019)

L'Algérie est en pleine transition épidémiologique, avec une recrudescence importante des maladies chroniques non transmissibles dont le diabète sucré, qui pose en effet, un problème de santé publique majeur avec des retombées socio-économiques importantes. Les données existantes sur le diabète de type 2 en Algérie sont parcellaires, sous estimées et ne répondent pas aux critères de l'OMS. La répartition des causes de décès selon une enquête de l'Institut

National de Santé Publique (INSP) [TAHINA, 2007] et selon la classification GBD (Global Burden of Disease), montre que parmi les dix premières causes de décès, le diabète occupe la 4<sup>ème</sup> place. La prévalence du diabète a significativement augmentée au cours des vingt dernières années, elle est passé de 6.8% en 1990 [INSP, 1990], 8% en 2001 [Malek et al., 2001] à plus de 14% en 2007 [Zaoui et al., 2007]. (Ouhaibi-Djellouli, 2017)

La prévalence du diabète a considérablement augmenté en Algérie pour passer de 8% en 1998 à 16% en 2013, l'étude nationale des indications multiples menée par le ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière en collaboration avec l'office national des statistiques et des représentations des nations unies à Alger, classe quand a elle, la pathologie du diabète en 2<sup>ème</sup> position derrière l'hypertension artérielle selon ces données (MAG2011-programme).

Le nombre de personnes atteintes de diabète est en progression, elle est passé de 0,3% chez les sujets âgés moins de 35 ans a 41% chez les patients entre 35 et 59 ans et à 12,5% chez les plus de 60 ans (MAG, 2011).

Cette pathologie affecte aussi les milieux défavorisés, révèle l'étude qui indique que le taux d'atteinte est 1% chez les familles démunies et de 3,5% chez les familles aisées. La région du centre du pays vient en tête concernant le nombre de diabétiques avec 2,3% suivie de la région ouest ; (2,1%). (Makhlouf et Kacimi, 2019)

La prévalence du diabète dans la population algérienne en surpoids est de 15.3% elle est plus fréquente chez les hommes (16.8%) comparé aux femmes (14.6%) [TAHIAN, 2007]. (Ouhaibi-Djellouli, 2017)

### **2.7.1.3 Diagnostic biologique du diabète sucre**

Le diabète sucré est donc défini comme un groupe de maladies métaboliques caractérisées par une élévation anormale et chronique de la glycémie.

Le diagnostic de diabète sucre est maintenant sans ambiguïté si la glycémie à jeun est supérieure à 7,0 mmol/L. (1,26 g/L), résultat confirmé par au moins deux examens, sur un prélèvement à jeun et sans erreur de laboratoire ! Dans la zone intermédiaire (6,1 à 7,0 mmol/L, soit 1,10 à 1,26 g/L), 10% des sujets deviendront diabétiques et doivent être surveillés. (Vaubourdolle, 2007)

Le test biochimique de diagnostic sera donc la détermination de la glycémie. (Vaubourdolle, 2007)

### **2.7.1.4 Classification différents diabètes**

La classification de l'Association américaine du diabète (ADA), universellement adoptée depuis 1997, distingue les diabètes de type 1 et les diabètes de type 2 :

- dans le diabète de type 1, l'hyperglycémie est due à une carence absolue en insuline, secondaire à la destruction des cellules bêta des îlots de Langerhans ;

- dans le diabète de type 2, la carence en insuline est relative et l'hyperglycémie est liée à l'association, dans des proportions variables, d'une insulino-résistance et d'une insuffisance de production d'insuline. (Caquet, 2012)

### **2.7.1.5 Le diabète sucré**

Doit son nom à la polyurie osmotique entraînée par la fuite de glucose dans les urines due à une hyperglycémie peut être due à une carence en insuline (diabète insulino-dépendant) ou non (diabète non insulino-dépendant).

#### ***2.7.1.5.1 Le diabète insulino-dépendant***

Diabète de type 1 est une maladie auto-immune détruisant les îlots de Langerhans. La disparition des îlots entraînent une baisse de l'insulino-sécrétion, une augmentation de la glycémie.

#### ***2.7.1.5.2 Le diabète non insulino-dépendant***

Le diabète de type 2 est une maladie complexe et multi génique, également lié aux bouleversements des modes de vie et des habitudes alimentaires. Il est associé des anomalies biochimiques au niveau transrationnel, traductionnel, et post traductionnel.

### **2.7.1.6 Traitement et thérapie du diabète**

Le but de la thérapie antidiabétique est la stabilisation du taux de glucose sanguin à un taux le plus proche de la normal et de prévenir l'apparition des complications de cette pathologie. L'activité physique et la surveillance de l'alimentation font partie intégrante du traitement du diabète.

Le traitement par insuline est nécessaire pour la survie des diabétiques de type 1. Les diabétiques de type 2 peuvent être traités par des mesures hygiéno-diététiques (régime et activités physiques) qui peuvent être associées à des antidiabétiques oraux ou encore à de l'insuline. (Baâli et Delloum, 2010)

#### ***2.7.1.6.1 Administration par injection d'insuline***

Administré soit aide d'une aiguille ou d'un stylo à l'insuline. Ces stylo sont plus faciles à utilisé que les aiguille en particulier pour les enfants.



Figure 05 : Photographie d'un stylo a insuline

### **2.7.1.6.2 Administration par comprimés pour le diabète de type 2**

Une alimentation équilibrée ainsi qu'un exercice physique régulier font partie du traitement du diabète de type 2. Lorsque les taux de glycémie et de HbA1c ne sont pas atteints dans un délai de 3 à 6 mois, il sera nécessaire de compléter le traitement par la prise de comprimés. Les médicaments antidiabétiques oraux agissent de différentes façons. Certains régularisent la glycémie en retardant l'absorption du glucose dans l'estomac ou en l'améliorant au niveau des cellules.

Changement des habitudes alimentaires qui sont indisponibles. Une consommation excessive d'alcool ou de tabac nuisait à l'état général de santé.

## **2.8 Evaluation de la glycémie en laboratoire d'analyse hématologique**

Le glucose représente la source principale d'énergie chez les mammifères, il est véhiculé par le sang jusqu'aux cellules. Sa concentration dans le sang, bien que régulée par l'insuline, est soumise à différents facteurs de variations, tels que la prise alimentaire, la dépense énergétique ou encore le stress. La mesure de ce taux représente donc un indicateur important pour caractériser l'activité d'un organisme (Bourguet *et al.*, 2011 in Andanson *et al.*, 2012)

Le test de glucose sanguin est l'un des examens médicaux les plus demandés dans les centres médicaux et hospitaliers. (Akpovi *et al.*, 2014)

### **2.8.1 La glycémie**

#### **2.8.1.1 Définition**

Reflète instantanément, la glycémie correspond au taux de glucose circulant.

Prélèvement chez un sujet à jeun depuis dix heures, sauf prescription contraire (glycémie post-prandiale). (Vaubourdolle, 2007)

La glycémie est identique de part et d'autre de la membrane érythrocytaire : un certain degré d'hémolyse ne gêne pas. (Valdiguié, 2000)

#### **2.8.1.2 Intérêt de la glycémie**

C'est une des constantes biologiques fondamentales située entre 4,45 et 5,55 mmol/L (0,8 et 1 g/L, PM = 180) soit 5 mmol/L en moyenne. De son maintien dépendent en particulier le fonctionnement cérébral dangereusement atteint au-dessous de 1,65 mmol/L et certains troubles hydroélectrolytiques (coma hyperosmolaire) lors de fortes hyperglycémies. (Valdiguié, 2000)

Glycémie et glycosurie sont des urgences techniques... (Valdiguié, 2000)

Il s'agit du test de diagnostic, ce dosage est aussi couramment prescrit dans le cadre d'un bilan systématique de dépistage (selon les critères suivants : sujets âgés de plus de 45 ans, obésité, hypertension, anomalie lipidique, famille de diabétiques, antécédent de diabète gestationnel)

ou naissance d'un enfant de plus de 4 kg) ou pour la surveillance du diabète. (Vaubourdolle, 2007)

La glycémie peut être dosée aussi bien sur sang total héparine que sur sérum. (Valdiguié, 2000)

Lorsque l'échantillon doit attendre plus d'une heure, entre le prélèvement et l'analyse, le sang doit être recueilli sur un inhibiteur de la glycolyse (fluorure de sodium qui est un antiglycolytique par formation d'un complexe fluorophosphomagnésien éliminant du milieu le magnésium indispensable à l'action de l'énolase). Ce prélèvement conserve son glucose intact pendant six heures.

Cependant l'échantillon est hémolysé et la présence du fluorure de sodium empêche tout autre type de dosage sur ce prélèvement. (Valdiguié, 2000)

### **2.8.1.3 Globules rouges glycémie et glycolyse**

#### ***2.8.1.3.1 Globules rouges***

Un simple érythrocyte est bourré de plus de 250 millions de molécules d'hémoglobine et ne contient pratiquement rien d'autre (ainsi chaque globule rouge peut transporter plus d'un milliard de molécules d'O<sub>2</sub>). Les globules rouges ne contiennent ni noyau, ni organite, ni ribosome qui ont été éliminés au cours de la maturation des érythrocytes. Ceux-ci sont donc, en quelque sorte, des sacs membranaires pleins d'hémoglobine.

Transporteurs d'O<sub>2</sub>, les érythrocytes sont inaptes à l'utiliser pour couvrir leur besoins d'énergie. En effet, ils ne contiennent pas de mitochondrie qui sont le siège des enzymes de la phosphorylation oxydative ; ils dépendent donc entièrement de la glycolyse anaérobie. (Sherwood, 2015)

#### ***2.8.1.3.2 Maturation des globules rouges et métabolisme***

Comme nous l'avons déjà signalé, les globules rouges de mammifères perdent au cours de l'hématopoïèse leur noyau et l'essentiel de leurs organites. Ce phénomène, qui a pour avantage de procurer aux hématies une déformabilité plus grande, réduit considérablement leurs possibilités métaboliques et leur durée de vie ( $\pm 4$  mois chez l'homme). L'énergie dont ces globules ont besoin est en fait uniquement dérivée de l'oxydation anaérobie du glucose via la glycolyse. (Gilles et al., 2006)

### **2.8.2 Prélèvement de sang pour dosage de la glycémie**

Le plus souvent, prélèvement de sang veineux recueilli sur anticoagulant (héparine, plus rarement oxalate) pouvant être associé à un antiglycolytique (fluorure ou iodoacétate). (Vaubourdolle, 2007)

### **2.8.3 Conservation du sang pour dosage de la glycémie**

Cette glycolyse est inhibée par le fluorure de sodium ce qui explique la meilleure stabilité de ces deux paramètres lorsqu'ils sont prélevés sur tubes fluorés. Par ailleurs, la glycolyse est ralentie à basse température (4°C). (Odoze et al., 2012)

Elle peut être cependant stabilisée 4 heures après le prélèvement si le tube utilisé contient du fluorure de sodium et ce jusqu'à 72 heures. Cependant, l'utilisation d'un tube fluore n'inhibe pas la glycolyse durant les 4 heures suivant le prélèvement. De même, une forte leucocytose retrouvée par exemple dans certaines hémopathies lymphoïdes, augmentera la glycolyse malgré l'ajout de fluorure.(46) L'ajout d'un tampon citrate, d'EDTA au tube fluore inhiberait davantage la glycolyse à des valeurs allant de 0.3% à 2 heures à 1.2 % à 24 heures. (Hulot, 2014)

(...) les fluorures peuvent agir comme inhibiteurs enzymatiques, notamment en bloquant l'énolase qui est une enzyme de la glycolyse. (Allart , 2014)

#### **2.8.4 Valeurs usuelles**

Chez l'adulte à jeun, 4,2 à 6.1 mmol/L (0.76 à 1.10 g/L) par une méthode enzymatique. Les taux sont légèrement plus élevés par les méthodes non spécifiques. (Vaubourdolle, 2007)

#### **2.8.5 Variations physiologiques**

Chez l'enfant et le nouveau-né, la valeur est plus faible. Au cours de la grossesse, le taux de la glycémie à jeun est abaissé. (Vaubourdolle, 2007)

#### **2.8.6 Cycle glycémique**

Après un repas (glycémie postprandiale), la glycémie s'élève pendant une période n'excédant pas deux ou trois heures. Chez un adulte de moins de 50 ans, la glycémie deux heures après le repas principal de la journée est inférieure à 7,8 mmol/L (1,40 g/L). La glycémie postprandiale s'élève de 0,55 mmol/L (0.10 g/L) par décennie après 50 ans. Alcool, tabac, stress, froid l'augmentent. Ce cycle (valeur à 14 heures et/ou 17 heures) est un examen complémentaire dans le suivi de la maladie chez le diabétique de type 2 et renseigne sur l'évolution de ce diabète, notamment sur les capacités sécrétoires d'insuline. (Vaubourdolle, 2007).

#### **2.8.7 Les méthodes de dosage de la glycémie**

L'appareil d'autocontrôle de la glycémie fait partie de l'équipement de base d'une personne diabétique. C'est le moyen le plus simple pour évaluer une glycémie.



Figure 06 : Appareil d'autocontrôle de la glycémie

## 2.8.8 Les méthodes de dosage de la glycémie en laboratoire d'hématologie

La répartition des méthodes mentionnées se réfère aux résultats du Contrôle national de qualité 1998, il n'y a pas de données diffusées plus récentes

- les méthodes **reductimétriques** vis-à-vis des sels de métaux lourds (non spécifiques) sont actuellement abandonnées :
- les méthodes **furfuraliques** (à l'orthotoluidine), également non spécifiques du glucose, donnent de bons résultats et sont encore utilisées par moins de 2 % des laboratoires
- les méthodes **enzymatiques** sont utilisées à l'heure actuelle par plus de 98 % des laboratoires. Elles sont spécifiques du glucose et font appel à diverses enzymes :
  - ✓ la *glucose oxydase* (85 %) : en présence de cette enzyme et d'oxygène moléculaire, le glucose est transformé en gluconate avec formation d'eau oxygénée.

Diverses techniques permettent alors de doser soit l'oxygène moléculaire consommé au cours de la réaction (2.5 %), soit l'eau oxygénée formée, en faisant appel à une peroxydase et à un chromogène (phénol aminoantipyrine : PAP-Trinder), avec mesure photométrique d'absorption moléculaire (68%) ou réflectométrique (lumière réfléchi : 15%).

- ✓ L'hexokinase (12% ) et la *glucose déshydrogénase* (1 %) : ces deux enzymes utilisent un coenzyme nicotinique (NAD-NADH<sub>2</sub>) comme indicateur de réaction. Elles sont beaucoup moins utilisées que la *glucose oxydase* (coût de revient plus élevé). (Vaubourdolle, 2007)

### 2.8.8.1 Les méthodes enzymatiques utilisées pour le dosage du glucose

Le dosage du glucose est exclusivement effectué par des techniques enzymatiques. 99% d'entre elles utilisent une hexokinase ou une *glucose oxydase*. Le reste utilise une *glucose déshydrogénase*. (Hulot, 2014)

#### 2.8.8.1.1 Méthode à la *glucose-oxydase-peroxydase*

C'est une technique moderne la plus employée également automatique, utilise comme réactif, l'enzyme *glucose-oxydase* préparée à partir de certaines bactéries, le  $\beta$ D glucose est oxydé en D-glycolanoctone par *glucose oxydase*, Oxydé en D-glycolanoctone par *glucose oxydase*, un chromogène réduit incolore en présence d'eau oxygénée produit l'intensité de la coloration est proportionnelle à la concentration en glucose. Cette réaction est catalysée par la peroxydase de nombreux chromogènes Ont été décrit dans la littérature Nature (O-dianisidine, MBTH, ABTS) la 4-amino-phénol est la plus utilisée et constitue le chromogène de la réaction de Trinder.

$\beta$ D glucose + H<sub>2</sub>O + O<sub>2</sub> → D-gluconolactone + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>... H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + chromogène réduit → 2H<sub>2</sub>O + chromogène oxydé (Coloré).

Les mesures sont effectuées vers 505 nm pic d'absorption.

#### 2.8.8.1.2 Méthode au *glucose déshydrogénase*

Méthode plus spécifique : considérée à l'heure actuelle comme méthode de référence est une autre méthode enzymatique utilisant l'hexokinase obtenue purifiée. Elle transforme  $\beta$ D G glucose en gluconolactone par l'intermédiaire de *glucose déshydrogénase*.

Le NADH formé est proportionnel au glucose présent dans l'échantillon. La transformation immédiate de la lactone en acide gluconique permet de déplacer l'équilibre.

$\text{BD glucose} + \text{NAD} \rightarrow \text{glyconolactone} + \text{NADH}, \text{H}^+$

$\text{BD glyconolactone} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{D gluconate} + \text{H}^+$

L'augmentation d'absorbance due à la production de NADH et UV 340

### **2.8.8.1.3 Méthode à l'hexokinase**

D glucose est phosphorylé en glucose 6-phosphate par ATP la réaction est catalysée par l'hexokinase, le glucose 6-phosphate formé est transformé en gluconolactone-6 phosphate par la G6PDH, on mesure la variation d'absorbance, due à la formation de NADP réduit, qui est proportionnel à la quantité de glucose, la valeur optimale du pH=7,7

$\text{D glucose} + \text{ATP} \rightarrow \text{gluconolactone} + \text{NADH}, \text{H}^+$

$\text{D-Glucose-6 phosphate} \rightarrow \text{D-gluconolactone-6 phosphate} + \text{NADPH}$

Les mesures sont effectuées le plus couramment par photomètre en UV 365nm.

La lecture de la glycémie est possible par l'aide de bandelettes imprégnées de glucose oxydase et d'un réactif coloré changement progressif de la couleur Oxydase en fonction de quantité une évaluation approximative de la glycémie.

## **2.8.9 Le prélèvement sanguin**

Fait par un infirmier, un technicien ou un médecin. Il permet de réaliser des examens de laboratoire sur le sang prélevé par ponction veineuse ou artérielle.

En générale il s'effectue par ponction veineuse au pli du coude, le sujet doit être à jeun au minimum 12h.

### **2.8.9.1 Technique de prélèvement**

- étude des veines du patient par palpation.
- pose d'un garrot au dessus du coude
- aseptisation du site à piqueur
- placer le patient en position basse
- faire desserrer le poing
- le sang cesse à couler
- on enlève le garrot puis aiguille, on applique un coton
- mettre un pansement
- identifier l'échantillon
- lever les restrictions alimentaires et remercier le patient
- éliminer le matériel utilisé
- stabiliser, conserver et transporter les échantillons au laboratoire.

### **2.8.10 Conservation du sang prélevé**

Placer les tubes à la verticale sur un support afin d'éviter que le caillot (dans les tubes sans anticoagulants) ne s'attache à l'intérieur du bouchon créant, ainsi un filament de fibrine dans le sérum qui peut causer la contamination même après la centrifugation.

Observer les directives spéciales de conservation, exemples :

\*respecter le délai recommandé entre le prélèvement et la stabilisation

Le sang total unité adulte doit être conservé à une température comprise entre 2°C et 8°C. Le sang conservé ne peut être hémolysé. Les délais d'utilisation dépendant de la composition de la solution anticoagulante et de conservation sur laquelle a été recueilli le sang : une solution citraté contenant de glucose : le délai est de 21 jours, alors que la durée de conservation est 2heurs dans le tube héparine.

### **2.8.10.1 Conteneur de conservation**

#### **2.8.10.1.1 Le tube sec**

Est destiné à faire des dosages sur du sérum.

Le sérum est le surnageant du sang après coagulation. Le caillot a monopolisé le Fibrinogène et autres facteurs d'hémostase, le sérum ne contient donc pas de fibrinogène. Le tube sec contient habituellement un gel qui peut activer la coagulation et qui lors de la centrifugation du tube, se positionne entre le culot formé par les éléments figuré (GR – GB –plaquettes) et le surnageant qui est le sérum. Le tube doit être mélangé convenablement par retournements pour que l'activateur de coagulation pulvérisé sur la paroi soit efficace, ce dernier est de bouchon blanc ou rouge selon la norme internationale pour le code couleur.

Le tube sec est donc destiné à faire des dosages « sériques ».

#### **2.8.10.1.2 Le tube hépariné**

Est employé dans la collection et l'anti-coagulation de sang non seulement pour des essais de routine et de secours également pour des essais dans la rhéologie du sang il enduit de l'héparine de lithium ou de l'héparine de sodium.

L'héparine active des antithrombines, de ce fait bloquant la cascade de coagulation et produisant un échantillon de sang entier au lieu du sang coagulé plus de sérum Par son traitement spécial la plupart des index de plasma peuvent être répétées dans un délai de 6 heures, Particulièrement pour tests sensibles comme AST ALT BIL GGT. Le Gel & Héparine tube est un genre de tube d'anticoagulant avec le gel de séparation au fond du tube d'héparine (Lithium Héparine ou Sodium Héparine pendent la centrifugation de cuvette, le gel de séparation forme une barrière entre le plasma et les cellules de sang.

Le plasma donc est le produit de la centrifugation du sang non coagulé. Il contient le fibrinogène et autre facteurs d'hémostase.

Les tubes héparines sont de bouchon vert selon la norme internationale pour le code couleur, et sont utilisés pour l'analyse des paramètres biochimiques comme la glycémie

#### **2.8.10.1.2.1 Nature chimique de heparine**

Héparine est un glycosaminoglycane (GAG). Les oses constitutifs sont : La N-acétylglucosamine et des acides iduroniques.

C'est un mélange de différent polymère essentiellement constituées d'unités di saccharidiques tri sulfatées :

- l'acide L-id uronique -2-O-sulfate (90%de ses composants)
- D-glucosamine-N-sulfate, 6-O-sulfate (10%de ses composants)

### 2.8.10.1.2 Description d'héparine de lithium

- Additif : héparine de lithium avec gel
- Couleur du capuchon : vert
- Echantillon pour l'essai : tube séparateur de plasma
- Taille : 13×75mm/13×100mm/16×100mm
- Nombre d'inversion : 8-10fois
- Utilisation prévue : pour les déterminations plasmatique en chimie
- Utilisateur : labo/hôpital /clinique
- Rotation : 3500tr/min ×8minutes période de coagulation
- Date d'expiration : 18 mois
- Stockage : température ambiante
- Formule brute :  $C_{12}H_{19}NO_{20}S_3$
- Demi-vie d'élimination : 90minutes

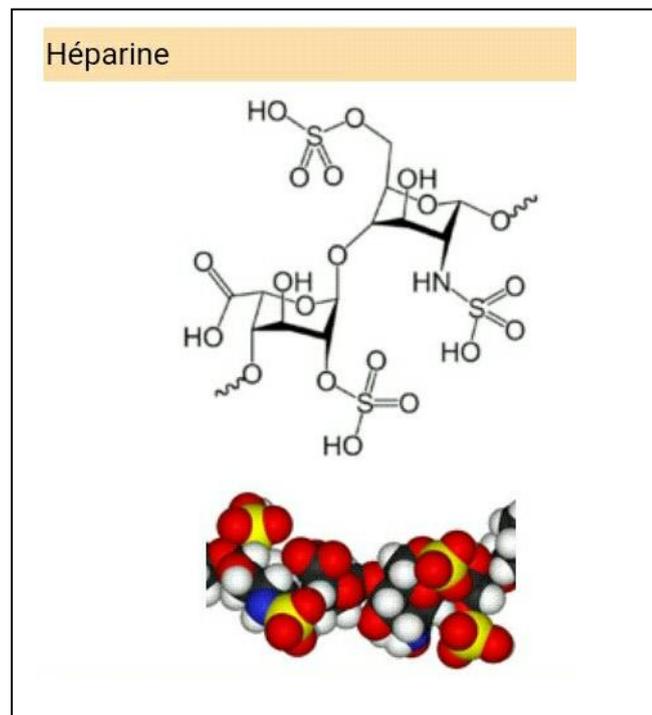


Figure 07 : Structure de l'héparine

### 2.8.10.1.2.3 Rôle de l'héparine

Son action est immédiate. Il est utilisé :

Dans le traitement préventif des accidents thromboemboliques artériels chez certaines personnes, dans le traitement des thromboses veineuses ou artérielles et dans le traitement initial du syndrome coronarien aigu et de l'infarctus du myocarde .en injection, elle sert éviter les accidents thrombotique, les troubles liée à une coagulation excessive ou en préventive d'une coagulation trop importante.

Héparine possède une action sur le métabolisme des lipides, action anti inflammatoire, anti infectieuse, et anti œdémateuse.

A la dose de 17 UI/mL de sang (100 UI =1 mg). Cet anticoagulant augmente l'activité inhibitrice de l'antithrombine III sur la thrombine. Il est utilisé sous forme sèche (lyophilisé ou déshydraté).

#### 2.8.10.1.2.3.1 Avantage

Ne dilue pas le sang et augmente la résistance des érythrocytes à l'hémolyse in vitro.

#### 2.8.10.1.2.3.2 Inconvénient

Bloque irréversiblement la coagulation, modifie les propriétés des thrombocytes. Modifie la coloration de MGG du faite de son acidité et modifie la vitesse de sédimentation (VS). (Moulasserdoun, 2017)

### 2.8.10.2 Lieu de conservation des prélèvements

Réfrigérateur pour banque de sang

Congélateur pour plasma

Pour la conservation et le stockage d'échantillon, des réactifs, et d'autres produits médicaux

Ce réfrigérateur stock de manière sûre et fiable les produits sensibles à la température entre 2°C et 10°C

Remarque : Durant notre stage dans le laboratoire d'analyse de l'Etablissement Publics de Santé de Proximité (EPSP) Regagba Abdelrahmane, de la daïra de Brezina Wilaya d'El-Bayad, après le prélèvement le sang est directement centrifugé, puis on entame l'analyse des échantillons.

### 2.8.10.3 Le temps de conservation

Dans le dosage de glycémie : 30 min après fin de prélèvement IV

La fréquence délai de rendue de résultat : 24h

Délai maximum d'acheminement 8h

Condition de conservation au laboratoire après analyse : 1 semaine +4°C

\* certaines analyse exigent un délai plus court et doivent être gardée sur glace en tout temps  
ex : ammoniac, acide lactique ...

\* personnellement le délai maximum au labo pendant les tube anticoagulantes sont température 15°C-25°C est de 12h

En général : car les qualités de sang commencent à diminuer quasiment dès le prélèvement donc acheminé au laboratoire dans un délai maximal 2h et les urines doivent alors être réfrigérées pour un maximum de 6 h

## **2.9 Les valeurs usuelles obtenues par différentes techniques d'analyses**

Le tableau suivant rapporte Les valeurs usuelles obtenues par différentes techniques d'analyses de différents laboratoires.

Tableau 01 : Techniques de dosage et valeurs usuelles obtenues par différentes techniques d'analyses.

Technique Du dosage	N mol/l	g/l
Folin-wir (manuelle)	5 - 6.10	1.25 - 1.52
Nelson-Somogy (manuelle)	4.45 - 5.56	1.11 - 1.39
Bandoïn-Levin (manuelle)	4.45 - 5.56	1.11 - 1.39
Hagedorn-Jansen (manuelle)	4.45 - 5.56	1.11 - 1.39
Hoffman (automatique)	4.45 - 5.56	1.11 - 1.39
Glucose oxydase (manuelle, automate)	3.33 - .5	0.83 - 1.25
Ortholuidine (automate)	3.61 - 5.28	0.79 - 1.32
Hexokinase (manuelle, automate)	3.06 - 5	0.76 - 1.25

## **2.10 Valeurs pathologiques de la glycémie**

Les valeurs de la glycémie à jeun son comprise entre 0,80 g/l (3,85 m mol/l) et 1,10 g/l(6 m mol/l).

Après les repas, les valeurs ne dépassent pas 1,40 g/l (7,7 m mol/ l) quel soit la nature de repas. (spinas. 2001)

### **3 Matériel et méthodes**

### **3.1 Présentation de l'établissement d'accueil**

Nous avons fait notre stage dans le laboratoire d'analyse de l'Etablissement Publics de Santé de Proximité (EPSP) Regagba Abdelrahmane, de la daïra de Brezina Wilaya d'El-Bayad. Situé au centre ville. Constitué de deux polyclinique celle de Brizina et celle d'El Ghassoul, comprenant 12 salles de soins, avec un effectif de 250 employés (26 médecins + 02 pharmaciens + 08 dentistes + 150 paramédicaux + personnel administratif).

### **3.2 Durée du stage**

Notre stage a débuté le : 10/02/2020 jusqu'au : 4/03/2020 soit une durée de 23 jours. Il est a noté que notre travail (comme tous les autres travaux de mémoire) c'est déroulé dans une atmosphère bien spécial : celle de la déclaration de la pandémie du Covid-19 ; en effet le premier cas en Algérie a été rapporté le 1 Mars 2020 à Blida et le 6 Avril 2020 dans la wilaya d'El Bayadh.

### **3.3 Echantillonnage**

Durant la période de notre travail nous avons choisi un échantillon de 20 patients choisis aléatoirement de sexe masculin et féminin.

### **3.4 Matériel**

#### **3.4.1 Matériel de prélèvement sanguin**

- Gants.
- Garrot.
- Seringue stérile.
- Coton sec.
- Antiseptique.
- Tubes avec et/ou sans anticoagulant : héparine (contient lithium héparine), tubes secs.
- Sparadrap
- Aiguilles

#### **3.5 Matériel de conservation**

- Tubes de conservation (hépariné, citraté, edta)
- Portoirs de tubes
- Centrifugeuse.

### **3.6 Matériel d'analyse**

#### **3.6.1 Les appareils**

##### **3.6.1.1 Le spectrophotomètre**

Marque Mindray, type : spectrophotomètre BA-88A (Reference Produit : BA-88A). Analyseur semi automatique de biochimie équipé d'un logiciel simple et facile a utilisé. L'écran tactile de ce spectrophotomètre favorise une utilisation aisée en laboratoire. Cet

analyseur semi automatique de biochimie est doté de deux port USB permettant ainsi la connection d'un clavier et d'une imprimante.

### **3.6.1.2 L'incubateur**

Marque Nuve, type FN 300 : Stérilisateur / fours à air sec, 22 litres, Plage de température : température ambiante + 5 ° C / 250 ° C. Conçu pour la stérilisation, le séchage et le chauffage. Système de contrôle à microprocesseur PID programmable. Panneau de commande facile à utiliser comprenant des affichages numériques pour la température et le temps. (Photo en annexe).

### **3.6.1.3 La centrifugeuse**

Centrifugeuse fabricant Nuve Sanayi ; model - CN 180, capacité 180 ml (12x15ml) ; maxi tr/mn = 5000 ; FCR maxi. (xg) = 3160 ; ajustement de la vitesse de révolution : microprocesseur ; poids 19 Kg ; verrouillage du couvercle en accélération : oui ; niveau sonore : 60 DB.

## **3.7 Matériel de dosage**

- Les micropipettes : pour prendre la dose nécessaire de liquide : réactif et l'échantillon de plasma.
- Les emboues : sont des cylindres à 2 orifices d'usage unique, qui permettent à prendre des quantités en µl
- Le container de déchets à incinérer: des récipients spécialisés pour mettre les déchets de la manipulation infectés, tel que le coton, les aiguilles,.....
- Portoir de tubes.
- Les réactifs : sont dans des coffrets.

## **3.8 Méthodes**

### **3.8.1 Technique de prélèvement sanguin**

Nous avons réalisé les prélèvements sanguins selon des étapes standards quasi-identiques pour les laboratoires d'analyse, étapes qu'on peut résumer comme suit :

- Vérifier l'ordonnance et préparer les formulaires.
- Accueillir ou approcher le patient et s'identifier
- Vérifier l'identité du patient
- Vérifier la préparation du patient
- Vérifier la concordance entre ordonnance formulaires étiquettes et matériel de collecte
- Se laver les mains
- Installer le patient
- Choisir le site de ponction
- Appliquer le garrot
- Choisir la veine à ponctionner
- Aseptiser le point de ponction

- Insérer l'aiguille, aspirer le sang et retirer le garrot
- Remplir les tubes et mélanger leur contenu
- Retirer aiguille, appliquer une pression et éliminer l'aiguille
- Vérifier le point de ponction et appliquer un pansement
- Identifier l'échantillon
- Eliminer le matériel utilisé
- Se désinfecter les mains. (O.P.T.M.Q, 2018)

On prélève pour chaque patient deux (02) tubes le premier tube est un tube sec, le second est un tube hépariné.

### 3.8.2 Conditions de conservation du sang prélevé

Les prélèvements ainsi correctement fait, il faut alors veiller à leur bonne conservation en vue des différentes analyses a réaliser.

Les principales règles de conservations peuvent être énumérées comme suit :

- Après avoir fait le prélèvement, mélangé les échantillons en retournant chaque tube.
- Placer les tubes à la verticale sur un support afin d'éviter que le caillot (pour les tubes sec) ne s'attache à l'intérieur du bouchon qui protège le tube contre une éventuelle contamination.
- Stabilisation des échantillons.
- Température : ambiante de laboratoire (15°C et 25°C).
- Centrifugation (2500g pendant une période minimale de 5 min).

Observer les directives spéciales de conservation :

- conserver au froid (ex : dosage de ammoniacque,...)
- ne pas centrifuger (ex fns,...)
- protéger de la lumière (ex : bilirubine, les vitamines,...)
- respecter le délai recommandé entre le prélèvement et la stabilisation
- la température du laboratoire doit être fixée entre 15°C et 25°C (pour la conservation des tubes). (O.P.T.M.Q, 2018)

### 3.8.3 Dosage du glucose plasmatique

Nous avons réalisé le dosage du Glucose plasmatique grâce à une méthode enzymatique - colorimétrique (GOD-POD).

La détection du glucose est ainsi basée sur la mesure (...) du peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> produite par la réaction enzymatique due à la glucose oxydase (GOD) (...) (Cette production d' H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> est en effet la signature des enzymes de type oxydase..). (Djeghlaf, 2013).

En fait c'est le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> qui est dosé par colorimétrie. En présence d'une peroxydase (POD), le peroxyde oxyde un chromogène réduit pour former un composé rouge violet de quinonéimine qui sert d'indicateur coloré. L'intensité de la coloration est

proportionnelle à la concentration en glucose. (Boukertouta et Hadeif, 2014) ; (Djeghlaf, 2013) ; (Baâli et Delloum, 2010) ; (Trinder, 1969).

### 3.8.3.1 Principe

(Voir annexe 1 : la notice de la firme biosystems)

Le taux de glucose a été déterminé par la méthode enzymatique de la glucose oxydase couplée à la réaction de Trinder à la peroxydase [5<sup>1</sup>]. (Akpovi et al., 2014)

Selon la méthode de Trinder (1969), il s'agit d'un dosage colorimétrique à la suite de deux réactions enzymatiques couplées.

- Dans la première réaction enzymatique spécifique la glucose oxydase (GOD) qui catalyse l'oxydation du glucose présent dans l'échantillon en acide gluconique et peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (réaction 1).
- Dans la deuxième réaction enzymatique (réaction couplée) la peroxydase (POD) utilise comme substrat le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (généralisé au cours de la première réaction) et réagit avec le phénol et la 4-Aminoantipyrine pour générer une quinone (Quinoneimine) qui est un chromogène (réaction 2)

Les deux réactions couplées peuvent être ainsi écrites :

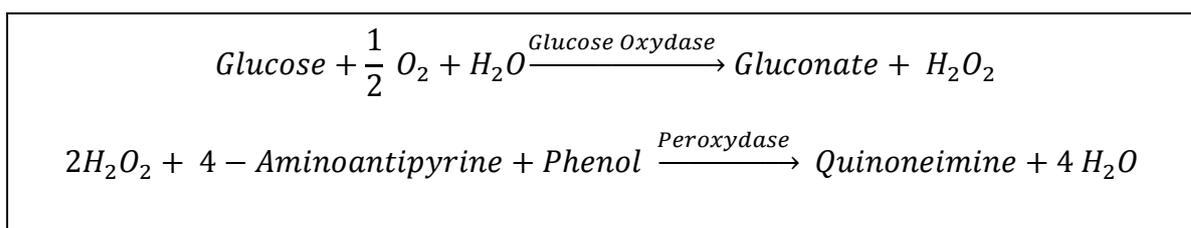


Figure 08 : Réactions chimiques permettant l'évaluation du taux de glucose par la méthode enzymatique à la glucose oxydase couplée à la réaction de Trinder (1969) à la peroxydase représentation Littéraire des molécules.

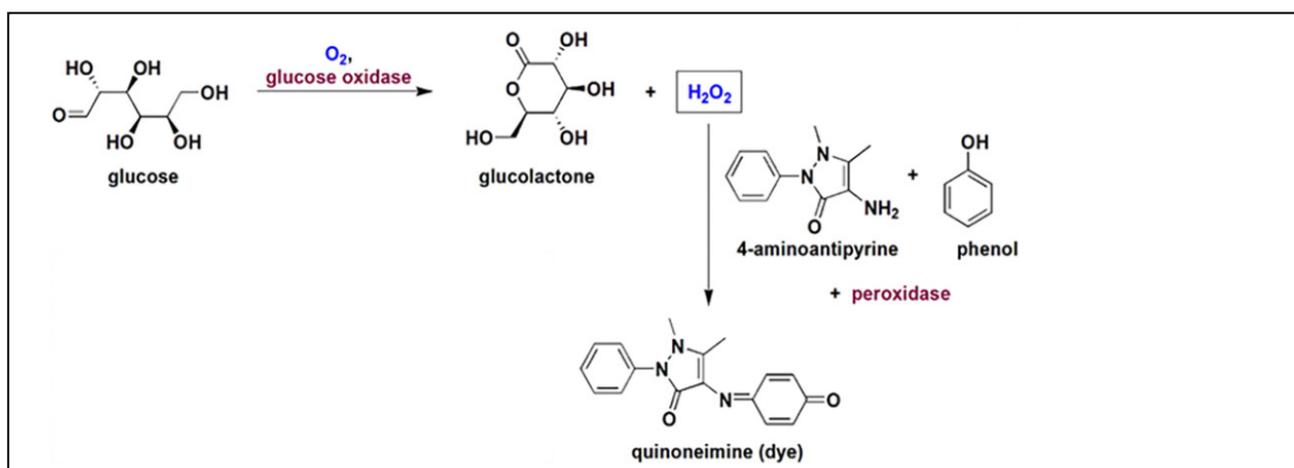


Figure 09 : Réactions chimiques permettant l'évaluation du taux de glucose par la méthode enzymatique à la glucose oxydase couplée à la réaction de Trinder (1969) à la peroxydase, représentation par formules chimiques des molécules. (Coutinho et al., 2017)

<sup>1</sup> Barham D, Trinder P. An improved colour reagent for the determination of blood glucose by the oxidase system. Analyst 1972; 97:142-145.

Tableau 02 : Composition du réactif utilisé (Notice Biosystems)

Réactif	Phosphate	100 mmol/l
	Phénol	5 mmol
	GOD	> 10 UI/ml
	POD	> 1 U/ml
	4-AP	0.4 mmol/L
	pH	7.5
Glucose (cal)	Glucose	100mg/dl
	Etalon primaire en solution acquise	

### 3.8.4 Mode opératoire

(Voir annexe 1 : la notice de la firme biosystems)

Remarques :

- Le dosage de la glycémie est réalisé après centrifugation des tubes.
- Le réactif et l'étalon sont conservés au réfrigérateur à une température de 2 à 8°C avant utilisation.

On préparé 3 tubes secs pour accomplir nos manipulation, nous avons respecter rigoureusement les étapes de dosage tel qu'elle ont été dictées par la notice biosystème accompagnant le coffret des réactifs (Voir annexe).

La préparation des tubes est rapportée par le tableau suivant :

Tableau 03 : Répartition des trois tubes utilisés pour chaque patient.

	Tube1	Tube2	Tube3
	Blanc	Etalon	Echantillon (plasma du patient)
<b>Etalon</b>	/	10 µl	/
<b>Echantillon</b> : plasma de patient	/	/	10 µl
<b>Réactif</b>	1ml	1 ml	1 ml

- Bien agiter les trois tubes et mettre les tubes dans l'incubateur pendant 5 min à une température de 37°C.
- Lire l'absorbance (A) de l'étalon et de l'échantillon face au blanc à 500 nm.
- La couleur est stable au moins 2 heures. (Notice biosystèm).

## **4 Résultats et discussion**

Nous avons réalisé des analyses de la glycémie chez 20 patients dans le laboratoire d'analyse de l'Etablissement Publics de Santé de Proximité (EPSP) Regagba Abdelrahmane, de la daïra de Brezina Wilaya d'El-Bayad. Choisis de façon aléatoire, parmi les personnes - hommes et femmes de différents âge- qui se sont adresser au laboratoire.

Dans un premier temps à 08h:30 on a prélevé deux échantillons pour chaque patient l'un sur tube héparine et l'autre sur tube sec.

Puis dans un deuxième temps 11h:30 nous avons réalisé des analyses de la glycémie pour les mêmes patients et les même prélèvements, l'un sur le tube héparine et l'autre sur le tube sec (3heurs sépare les deux séries d'analyse).

Les tableaux suivants rapportent les résultats obtenus (la glycémie y est exprimée en g/L).

#### **4.1 Résultats du premier prélèvement**

Tableau 04 : Valeurs de la glycémie de vingt patients obtenus à 08h :30 sur tube hépariné et tube sec, exprimées en g/L. (H: homme F: femme).

N°	Sexe	Age (année)	1 <sup>er</sup> temps 8h30	
			Glycémie (g/L) Tube sec	Glycémie (g/L) Tube hépariné
1	F	32	0.95	0.90
2	F	16	1.09	0.98
3	F	55	1.87	1.77
4	H	20	1.02	1.02
5	F	35	2.95	2.90
6	F	40	2.74	2.71
7	H	44	1.56	1.44
8	H	17	1.10	1.10
9	H	33	0.97	0.82
10	F	40	1.43	1.40
11	F	62	1.78	1.74
12	F	30	1.84	1.79
13	F	71	1.01	0.90
14	F	21	0.86	0.81
15	H	34	3.11	3.01
16	F	15	0.70	0.80
17	H	32	1.84	1.79
18	F	65	0.98	0.95
19	H	54	1.67	1.63
20	H	47	0.72	0.72

## 4.2 Résultats du second prélèvement

Tableau 05 : Valeurs de la glycémie de vingt patients obtenus à 11h :30 sur tube hépariné et tube sec, exprimées en g/L. (H: homme F: femme ).

N°	Sexe	Age (année)	2 <sup>ème</sup> temps 11:30	
			Glycémie (g/L) Tube sec	Glycémie (g/L) Tube héparine
01	F	32	0.57	0.66
02	F	16	0.77	0.93
03	F	55	1.31	1.42
04	H	20	0.76	1.80
05	F	35	2.74	2.80
06	F	40	2.30	2.54
07	H	44	1.18	1.24
08	H	17	0.82	0.90
09	H	33	0.53	0.57
10	F	40	1.01	1.10
11	F	62	1.32	1.40
12	F	36	0.34	0.45
13	F	71	0.38	0.50
14	F	21	0.78	0.80
15	F	34	2.64	2.66
16	H	15	0.69	0.70
17	F	30	1.19	1.39
18	H	65	0.47	0.68
19	F	54	1.30	1.36
20	H	47	0.26	0.27

### 4.3 Etude statistique de la population

#### 4.3.1 Répartition de l'échantillon étudié selon le sexe du patient

La répartition de notre échantillon selon le sexe est rapportée par le tableau suivant :

Tableau 06 : Répartition de l'échantillon étudié selon le sexe.

Sexe	Nombre	Pourcentage
Homme	08	40%
Femme	12	60%
Total	20	100%

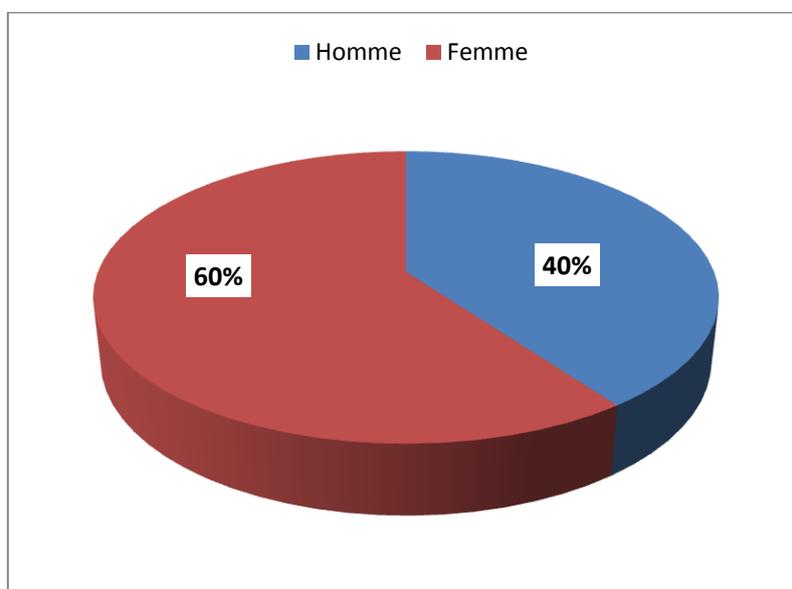


Figure 10 : Représentation graphique en portion du pourcentage de l'échantillon étudié, répartis selon le sexe du patient.

Le tableau suivant rapporte à titre indicatif la population de la wilaya d'El Bayadh, ainsi que la population nationale.

Tableau 07 : Répartition de la population de la wilaya d'El Bayadh, ainsi que la population nationale par sexe avec leurs pourcentages respectifs. <sup>2</sup>

	Population		
	Masculin	Féminin	Total
<b>Total national</b>	17408675,00	17051051,00	34459726,00
%	50,52	49,48	
<b>El Bayadh</b>	132251,00	129935,00	262186,00
%	50,44	49,56	

<sup>2</sup> Source : <http://www.andi.dz/index.php/fr/statistique/population-algerienne>.

On ne prétend pas que notre échantillon est représentatif de la population de la daïra de Brezina. Ce n'est pas l'objectif de notre étude, rappelons que nous essayons de savoir si le temps écoulé entre le moment de la prise de sang et le moment de l'analyse de la glycémie influe sur la valeur de la glycémie. Il en va de même pour l'effet de l'anticoagulant : a t'il ou pas un effet sur la valeur de la glycémie ? Tout âge et sexe confondu.

#### **4.4 Répartition de l'échantillon étudié selon l'âge du patient**

Les résultats de l'étude de notre l'échantillon, répartis selon l'âge du patient sont rapportés comme suit. (Voir tableau 08 et figure 11)

Tableau 08 : Répartition de l'échantillon étudié selon l'âge des patients.

Age (année)	Nombre	Pourcentage
0 - 20	04	20
21 - 40	09	45
41 - 60	04	20
> 60	03	15

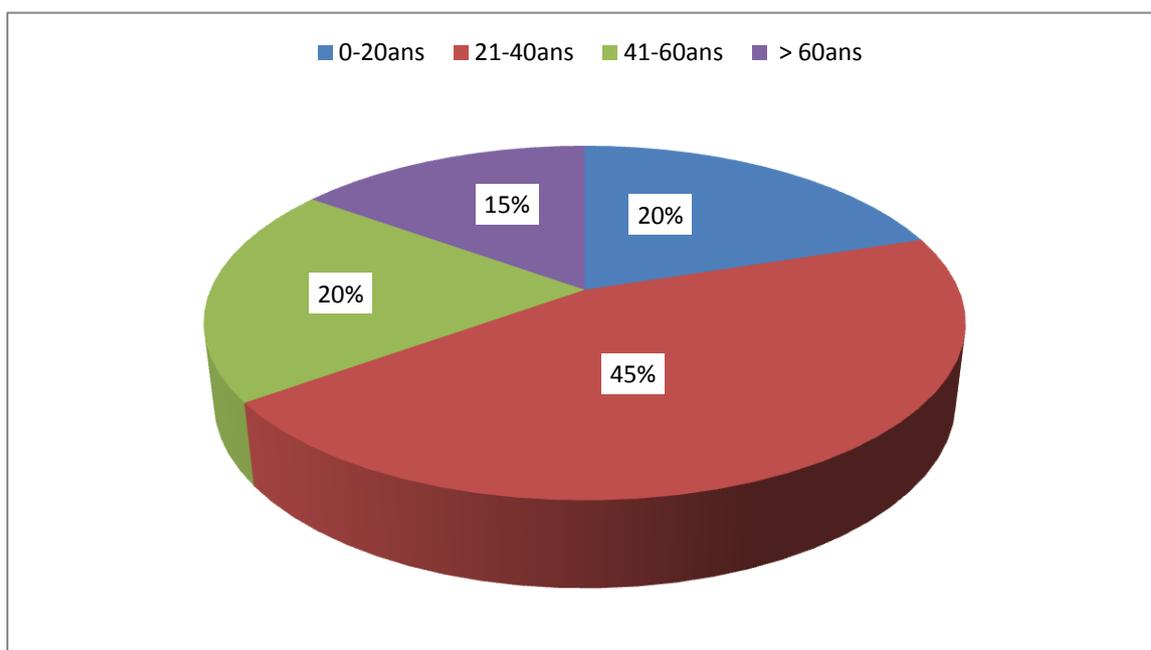


Figure 11 : Représentation graphique en portion du pourcentage de l'échantillon étudié, répartis selon l'âge du patient.

Notre échantillon est formé par toutes les tranches d'âge. Il nous permet de dire –avec réserve- que le diabète touche ou est suspecté de touché toutes les tranches d'âge de notre population. Cette affirmation est en accord avec les enquêtes national et internationales sur le diabète.

#### **4.5 La prévalence du diabète dans l'échantillon étudié**

Prenant la glycémie (g/L) lu le 1<sup>er</sup> temps c'est à dire à 8h30 sur Tube sec.

La prévalence du diabète dans notre échantillon est de 50% : dix des vingt patients (10/20 soit 50%) ont une glycémie supérieure à 1.26 g/L (variant de 1,40 g/L à 3,11 g/L) donc diabétique. Bien sur il s'agit d'un échantillon de patients diabétiques connu ou dont les médecins traitants ont jugé qu'une évaluation de la glycémie été nécessaire. Cet échantillon n'est pas représentatif de la population total de Brezina, et moins encore de la population à l'échelle nationale. Néanmoins elle reflète importance et la gravité du diabète comme problème de santé publique.

Il suffit de se référer aux chiffres de la prévalence du diabète à l'échelle national selon les études épidémiologiques.

Ainsi, la prévalence du diabète a significativement augmentée au cours des vingt dernières années, elle est passé de 6.8% en 1990 [INSP, 1990], 8% en 2001 [Malek et al., 2001] à plus de 14% en 2007 [Zaoui et al., 2007]. in Ouhaibi-Djellouli, 2017)

Toutes les études menées en Algérie rapportent cet état de fait :

La prévalence du diabète a considérablement augmenté en Algérie pour passer de 8% en 1998 à 16% en 2013, l'étude nationale des indications multiples menée par le ministère de la santé, de la population et de la réforme hospitalière en collaboration avec l'office national des statistiques et des représentations des nations unies à Alger, classe quand a elle, la pathologie du diabète en 2<sup>ème</sup> position derrière l'hypertension artérielle selon ces données (MAG2011-programme). (Makhlouf et Kacimi, 2019)

L'Algérie est en pleine transition épidémiologique, avec une recrudescence importante des maladies chroniques non transmissibles dont le diabète sucré, qui pose en effet, un problème de santé publique majeur avec des retombées socio-économiques importantes. Les données existantes sur le diabète de type 2 en Algérie sont parcellaires, sous estimées et ne répondent pas aux critères de l'OMS. La répartition des causes de décès selon une enquête de l'Institut National de Santé Publique (INSP) [TAHINA, 2007] et selon la classification GBD (Global Burden of Disease), montre que parmi les dix premières causes de décès, le diabète occupe la 4<sup>ème</sup> place. (Ouhaibi-Djellouli, 2017)

#### **4.6 La prévalence du diabète dans La tranche d'âge 21-40 ans**

Nous remarquons que la tranche d'âge 21-40 ans représente le pourcentage le plus élevé 45% des analyses, ce fait est assez inquiétant, car le dosage de la glycémie soit pour contrôler la glycémie chez un diabétique confirmé, soit pour dépister un diabète soupçonné cliniquement, été réservé classiquement aux personne plus âgées. Cette tranche d'âge est la plus active dans la société, elle doit être en pleine activité physique, les diabétiques dans cette tranche d'âge ne doivent représenter qu'un petit pourcentage.

Malheureusement la revue des résultats obtenus révèle que :

- trois des neufs patients (3/9 soit  $\approx 33\%$ ) ont une glycémie inférieure à 1.26 g/L (soit 0,86 g/L ; 0,95 g/L ; 0,97 g/L) donc non diabétique.
- six des neufs patients (6/9 soit  $\approx 67\%$ ) ont une glycémie supérieure à 1.26 g/L (soit 1,43 g/L ; 1,84 g/L ; 1,84 g/L ; 2,74 g/L ; 2,95 g/L ; 3,11 g/L) donc diabétique.

Si cette tendance reflète fidèlement l'état de santé de la population de la région de Brizina il convient de corriger l'hygiène de vie de cette population (activité physique, habitudes alimentaires ... etc.). Une éventuelle enquête épidémiologique donnera des réponses complètes sur ce sujet.

Toute fois la aussi la consultation des résultats des enquêtes épidémiologiques confirme cette tendance à l'échelle nationale.

La répartition de la fréquence du diabète, en classes d'âge, chez les deux sexes, dans les deux milieux montre que globalement les tranches d'âge les plus touchées, dans les deux sexes, sont celles de 30-39 ans et 40-49 ans. (Zaoui et al., 2007)

Le nombre de personnes atteintes de diabète est en progression, elle est passé de 0,3% chez les sujets âgés moins de 35 ans à 41% chez les patients entre 35 et 59 ans et à 12,5% chez les plus de 60 ans (MAG 2011). (Makhlouf et Kacimi, 2019)

Cette prédominance semble confirmé en milieu rural et urbain : (...) avec une prédominance chez les classes d'âge de **30 à 50 ans** dans les deux milieux (milieu urbain, milieu rural). (Zaoui et al., 2007)

#### ***4.7 La prévalence du diabète dans diabète selon sexe du patient***

A la revue de nos résultats, le diabète touche d'une façon égale les deux sexes. Chez les femmes : 06 diabétique/12 femme : 50% des femmes (1,40 g/L - 2,95 g/L) ; (06/20 soit  $\approx 30\%$  de la population totale étudiée)

Chez les hommes : 04 diabétique/ 08 homme 50% des hommes (1,44 g/L - 3,11 g/L) ; (04/20 soit  $\approx 20\%$  de la population totale étudiée)

Par contre la répartition par sexe rapporté par nos résultats n'est pas la même que celle rapporté par d'autres études :

L'étude de Zaoui et al. rapporte que « les hommes sont plus sujets à cette maladie que les femmes, 20,4 % (559/2 745) contre 10,7 % (527/4 911), respectivement ( $\chi^2 = 9,91$  ;  $p < 0,05$ ). » (Zaoui et al., 2007)

L'étude de Ouhaibi-Djellouli rapporte que « la prévalence du diabète dans la population algérienne en surpoids est de 15.3% elle est plus fréquente chez les hommes (16.8%) comparé aux femmes (14.6%) [TAHIAN, 2007]. » (Ouhaibi-Djellouli, 2017)

En France les travaux de Hulot rapporte la même tendance : « La prévalence du diabète traité pharmacologiquement était plus élevée chez les hommes (6.4%) que chez les femmes (4.5%), à âge égal, sauf dans les départements d'outre-mer. » (Hulot, 2014)

## **4.8 Effet de l'anticoagulant et du temps sur l'évaluation de la glycémie**

### **4.8.1 Utilité et choix du test statistique**

Confronté a quatre série de vingt chiffres rapportant la glycémie de l'échantillon étudié de nos vingt patients (tubes sec et tubes héparinés à t = 8:30, tubes sec et tubes héparinés à t = 11:30), on se demande s'il existe une différence réelle entre ces résultats et comment décider si cette différence est significative ou non.

Une telle prise de décision et revient à l'utilisation d'un test statistique. Alors la première question que l'on doit logiquement se poser sera donc :

#### **4.8.1.1 Pourquoi utiliser des tests statistiques ?**

La quasi totalité des études réalisées raisonnent sur la base d'échantillons. En effet, pour des raisons de faisabilité technique et de coût financier, il est presque toujours impossible de travailler sur la population totale (la population réelle) concernée par une enquête. On doit donc se contenter de travailler sur une partie de cette population : on va alors en construire un échantillon représentatif<sup>3</sup>.

Toutefois, même si les règles d'échantillonnage sont scrupuleusement respectées, il existe toujours une part de hasard. Autrement dit, « un échantillon, même tiré au sort, n'est pas le reflet exact de la population dont il est issu »<sup>4</sup>. Il existe donc un écart entre un phénomène mesuré dans un échantillon et sa vraie valeur dans la population totale : on parle de *fluctuations d'échantillonnage*. Comment savoir alors si une tendance observée dans un échantillon est bien valable pour l'ensemble de la population (et n'est donc pas le seul fruit du hasard) ?

C'est pour répondre à cette question que l'on fait appel aux tests statistiques. Ceux-ci permettent de s'assurer que les résultats observés dans un échantillon sont généralisables (ou non) à l'ensemble de la population concernée. Ainsi, sous leur contrôle et avec un risque d'erreur connu<sup>5</sup>, on saura si l'on peut étendre à l'ensemble de la population des conclusions établies sur un échantillon de cette dernière. (Mignot et Bertin, 2012)

L'appel aux tests statistiques dans l'expérimentation biologique et médicale s'explique par le fait que l'expérimentateur se trouve confronté après échantillonnage à des résultats numérique plus ou moins rapproché.

---

<sup>3</sup> On va tirer au sort un certain nombre d'individus parmi la population concernée. Différents types d'échantillonnages peuvent être mis en place (échantillonnage aléatoire, systématique, stratifié, par quotas, etc.).

<sup>4</sup> R. Michel, L. Ollivier-Gay, A. Spiegel, J-P. Boutin, « Les test statistiques : intérêt, principe et interprétations », *Med Trop* 2002, n° 62, 2002, pp. 561-563.

<sup>5</sup> On fixe généralement le degré (ou niveau) de confiance à 95%, soit 5% de risque de se tromper.

Ces chiffres sont sensé rapportés une réponse à une problématique scientifique : dans notre cas chez vingt patients la glycémie varie elle selon qu'on utilise ou pas un anticoagulant dans le tube de prélèvement ? L'utilisation du test statistique peut il nous conduire à affirmer que la différence entre les résultats obtenus est significative, et amener à conclure si l'on doit ou non utiliser un anticoagulant.

Dans les essais cliniques, la problématique essentielle revient à une comparaison entre groupes afin de déterminer soit une similitude, soit une différence. Ces comparaisons sont effectuées à l'aide de tests statistiques. (Chippaux, 2004)

On arrive donc à comprendre le rôle d'un test statistique :

Un test statistique est un mécanisme qui permet de trancher entre deux hypothèses au vu des résultats d'un échantillon.

Soient  $H_0$  et  $H_1$  deux hypothèses ( $H_0$  est appelée hypothèse nulle,  $H_1$  hypothèse alternative), dont une et une seule qui est vraie. La décision consiste à retenir  $H_0$  ou  $H_1$ . (Zarrouk, 2012)

On sait que le problème de la comparaison de deux moyennes est résolu par le test "t" de Student : une méthode peut donc consiste à comparer les moyennes deux à deux à l'aide de ce test. (Pichard, 1992)

Lorsque l'effectif est inférieur à 30 (...) la comparaison de deux moyennes doit utiliser le test t de Student. (Chippaux, 2004)

Le « t de Student » est un test de différence des moyennes utilisé lorsque l'on cherche à comparer deux moyennes entre elles. Plus précisément, il permet de mesurer la significativité statistique des différences entre deux moyennes. (Mignot et Bertin, 2012)

#### **4.8.1.2 Le « TEST.STUDENT » sous Microsoft Excel**

Nous avons utilisé le logiciel Microsoft Excel qui simplifie l'utilisation des statistique, le test de Student y est simplifier, il suffit d'appeler la fonction prédéfini « TEST.STUDENT », qui après lecture des deux matrice à comparer (dans notre cas par exemple, vingt glycémie dans le tube hépariné et vingt glycémie dans le tube sec a t = 8:30) renvoie la valeur « t ».

On compare la valeur calculée de t ( $t_{obs}$ ) avec la valeur critique appropriée de t avec n - 1 degrés de liberté. On rejette  $H_0$  si la valeur absolue de  $t_{obs}$  est supérieure à cette valeur critique.

Les valeurs critiques pour différents degrés de liberté et différents seuils de signification sont données par la table de Student. (Zarrouk, 2012) (**Voir annexe n°000**)

#### **4.8.1.3 Progression logique du test de Student pour échantillons appariés appliqué a notre étude**

La commodité du test de student c'est qu'il nous a permis de comparer chez le même patient si il y avait une différence statistiquement significative entre deux résultats par exemple glycémie dans le tube sec et glycémie dans le tube hépariné a 8h30, et ce pour chacun de nos patient.

Le principe est donc simple, il s'agit d'analyser les différences « d » observées pour chaque paire de valeur de la glycémie dosée.

On désigne par :

- **Sérum** : le surnageant obtenu après **coagulation** et centrifugation du sang dans un tube « sec », c'est-à-dire **sans anticoagulant**.

La coagulation débarrasse le sang des facteurs de coagulation et du fibrinogène, consommés par la coagulation.

- Le **plasma** : le liquide jaunâtre surnageant dans le sang total. Il sert à transporter les cellules sanguines à travers le corps. (Drame, 2019)

Le plasma est obtenu par simple centrifugation du sang prélevé dans un tube avec un **anticoagulant** ; il n'y a donc **aucune** coagulation dans le tube.

- T1 : le temps du premier dosage de la glycémie, c'est-à-dire 08:30.
- T2 : le temps du second dosage de la glycémie, c'est-à-dire 11:30.

Le tableau suivant rapporte les paires utilisées.

Les comparatifs entre les glycémies des tubes secs et hépariné ont été réalisés comme suit :

Tableau 09 : Paires utilisé pour réaliser le test de student pour échantillon appariés

Numéro du comparatif	Tube dont la glycémie est comparée
1	Tube sec dosage à T1 <=> Tube sec dosage à T2
2	Tube hépariné dosage à T1 <=> Tube hépariné dosage à T2
3	Tube sec dosage à T1 <=> Tube hépariné dosage à T1
4	Tube sec dosage à T2 <=> Tube hépariné dosage à T2

Chaque comparatif à un but recherché précis, rapporté dans le tableau suivant :

Tableau 10 : But recherché dans chaque paire utilisé pour réaliser le test de student pour échantillon appariés.

Numéro du comparatif	But à réaliser pour chaque comparatif
1	Evaluer l'effet du temps écoulé entre T1 et T2 sur la glycémie dosé dans les tubes <b>Sec</b> : donc dosé dans le <b>Sérum</b> .
2	Evaluer l'effet du temps écoulé entre T1 et T2 sur la glycémie dosé dans les tubes <b>Hépariné</b> : donc dosé dans le <b>Plasma</b> .
3	Evaluer l'effet de l'anticoagulant sur la glycémie dosé dans le tube <b>Sec</b> et dans le tube <b>Hépariné</b> à T1 : donc évaluer l'effet de l'anticoagulant sur la glycémie dosé dans le <b>Sérum</b> et le <b>Plasma</b> .
4	Evaluer l'effet de l'anticoagulant sur la glycémie dosé dans le tube <b>Sec</b> et dans le tube <b>Hépariné</b> à T2 : donc évaluer l'effet de l'anticoagulant sur la glycémie dosé dans le <b>Sérum</b> et le <b>Plasma</b> .

#### 4.8.1.3.1 Exemple illustratif de la progression logique du test de Student pour échantillons appariés appliqué à notre étude

A titre d'exemple illustratif je rapporte ci-après les étapes logiques que j'ai suivies pour réaliser le test de Student et interpréter les résultats ainsi obtenus.

L'exemple choisi est le comparatif N°3. Il s'agit d'évaluer l'effet de l'anticoagulant sur la glycémie dosé dans le tube **Sec** et dans le tube **Hépariné à T1** : donc évaluer l'effet de l'anticoagulant sur la glycémie dosé dans le **Sérum** et le **Plasma à T1**.

##### Étape 1. Question biologique

Y a-t-il une différence des valeurs de la glycémie entre les tubes secs et les tubes héparinés dosées à T1 (t =8:30) ?

##### Étape 2. Déclaration des hypothèses

H0: Il n'y a pas de différence de valeur de la glycémie entre les tubes secs et les tubes héparinés dosée à t =8 :30.

H1: Il y a une différence de la valeur de la glycémie entre les tubes secs et les tubes héparinés dosée à t =8 :30.

##### Étape 3. Choix du test

Le test statistique utilisé est un test de « t » de Student pour échantillons appariés.

##### Étape 4. Conditions d'application

Les échantillons sont appariés.

Les différences de longueur suivent une distribution normale.

##### Étape 5: Distribution de la variable auxiliaire

Si H0 est vraie, la variable auxiliaire  $t_d$  suivra une distribution de Student à  $\nu = n - 1 \Rightarrow \nu = 20 - 1 \Rightarrow \nu = 19$  ddl, où  $n$  est le nombre de différences de valeur de la glycémie.

##### Étape 6. Règle de décision

On rejette H0 au seuil  $\alpha = 0,05$  si  $|t_d| \geq |t(\alpha:\nu)|$  où  $t(\alpha:\nu) = t(0,05:19) = 2.093$

##### Étape 7. Calcul du test

Tableau 11 : Résultat du Test de Student pour les quatre test réalisés.

Comparatif	1 SEC <sub>T1</sub> -SEC <sub>T2</sub>	2 HEP <sub>T1</sub> -HEP <sub>T2</sub>	3 SEC <sub>T1</sub> -HEP <sub>T1</sub>	4 SEC <sub>T2</sub> -HEP <sub>T2</sub>
Résultat du Test de Student	0,062	0,284	0,826	0,549

## Étape 8. Décision statistique

- Si  $|t|$  est inférieur à la valeur lue dans la table de Student pour le nombre de degré de liberté  $(n-1)$  et le risque 5% les moyennes ne diffèrent pas significativement au seuil de 5%.
- Si  $|t|$  est supérieur à la valeur lue dans la table de Student pour le nombre de degré de liberté  $(n-1)$  et le risque 5% les moyennes diffèrent significativement et le risque indiqué par la table pour la valeur  $|t|$  fixe le degré de signification.

### 4.8.1.4 Résultats obtenus après application du test de student

Puisque toutes les valeurs calculées par le test de Student (voir tableau ci-dessus) ; ( $t < 2.093$ ), on rejette toutes les hypothèse  $H_1$  au seuil  $\alpha = 0,05$ .

Donc les moyennes ne diffèrent pas significativement au seuil de 5%, alors toutes les hypothèses suivantes sont acceptées :

1. **H<sub>0</sub>**: Il n'y a pas de différence de valeur de la glycémie entre les tubes **secs** et les tubes **héparinés** dosée à **t = 8:30**.
2. **H<sub>0</sub>**: Il n'y a pas de différence de valeur de la glycémie entre les tubes **secs** dosée à **t = 8:30** et les tubes **héparinés** dosée à **t = 11:30**.
3. **H<sub>0</sub>**: Il n'y a pas de différence de valeur de la glycémie entre les tubes **secs** dosée à **t = 8:30** et les tubes **secs** dosée à **t = 11:30**.
4. **H<sub>0</sub>**: Il n'y a pas de différence de valeur de la glycémie entre les tubes **héparinés** dosée **t = 8:30** et les tubes **héparinés** dosée à **t = 11:30**.

## Étape 9. Interprétation biologique

Selon les résultats de notre étude on peut affirmer que :

- Les valeurs de la glycémie obtenues par le premier dosage (8 :30) et ceux obtenues par le second dosage (11:30) ne diffèrent pas significativement.  
**Donc les valeurs de la glycémie sont restées stable pendant trois heures.**
- Les valeurs de la glycémie obtenues par le premier dosage (8 :30) et ceux obtenues par le second dosage (11:30) ne diffèrent pas significativement sur tube sec ou hépariné.  
**Donc les valeurs de la glycémie sont restées stable dans le sérum et dans le plasma.**

#### **4.9 Discussion des résultats obtenus concernant la stabilité de la glycémie pendant trois heures avec ou sans anticoagulant**

Comme nous je l'ai déjà signalé dans la partie bibliographique, les hématies dépendent entièrement de la glycolyse.

Transporteurs d'O<sub>2</sub>, les érythrocytes sont inaptes à l'utiliser pour couvrir leur besoins d'énergie. En effet, ils ne contiennent pas de mitochondrie qui sont le siège des enzymes de la phosphorylation oxydative ; ils dépendent donc entièrement de la glycolyse anaérobie. (Sherwood, 2015)

L'énergie dont ces globules ont besoins est en fait uniquement dérivée de l'oxydation anaérobie du glucose via la glycolyse. (Gilles et al., 2006)

Ces données scientifiques nous ont laissé perplexes. Pourquoi ?

Parce que : plusieurs références bibliographiques, affirment que la glycémie baisse dans les tubes après le prélèvement sanguin. Je ne citerais ici que quelques unes :

- « (...) dans les premières heures, la glycolyse reste active et **consomme du glucose**, produisant du pyruvate » (Monneret et al., 2016)
- Tout milieu biologique contient toujours assez d'enzymes glycolytiques pour dégrader le glucose présent et engendrer rapidement une erreur par défaut : **la conservation de l'échantillon prélevé en l'absence d'agent inhibiteur de la glycolyse ne doit pas dépasser une heure.** (Valdiguié, 2000)
- En effet, **la glycémie** obtenue à partir d'un prélèvement effectué sur anticoagulant seul **décroît très rapidement.** A la température du laboratoire, **la baisse peut atteindre 10 % par heure,** conséquence de la glycolyse induite par les éléments figurés du sang. (Vaubourdolle, 2007)
- L'étude de stabilité de Boyanton et Blick, **les changements observés au fil du temps** dans le lactate, **le glucose,** le potassium, le pH, le CO<sub>2</sub> et l'HCO<sub>3</sub> **étaient plus prononcés dans le plasma que dans le sérum.** (Bezuidenhout et al., 2016)

Alors que nos résultats rapportent que la glycémie est stable pendant trois heures avec ou sans anticoagulant, dans le plasma et dans le sérum, ces travaux affirment que la glycémie enregistre une baisse significative résultant de la consommation du glucose par les globules rouges (réactions de la glycolyse en anaérobie).

Je me suis donc attelé à une étude bibliographique plus large, pour lever cette contradiction.

Deux travaux traitant des sujets similaires aux nôtres sont particulièrement importants. Il s'agit des travaux de **Akpovi et al., 2014,** ainsi que des travaux publiés par **WHO, 2002.**

#### 4.9.1 Résumé des travaux de Akpovi et al., 2014 et confrontation avec nos résultats

Nous avons mesuré la glycémie à intervalles de temps de 2h pendant 24h sur prélèvement fait sur tube contenant du fluorure de sodium (NaF) et sur tube sec sans anti-glycolyse. Les résultats obtenus dans le sérum ont été comparés aux résultats du plasma fluoré considéré comme prélèvement de référence. (Akpovi et al., 2014)

La glycémie ne change pas significativement dans le plasma fluoré pendant les 24 h qu'ont duré les dosages (fig. 1A et 1B). (Akpovi et al., 2014)

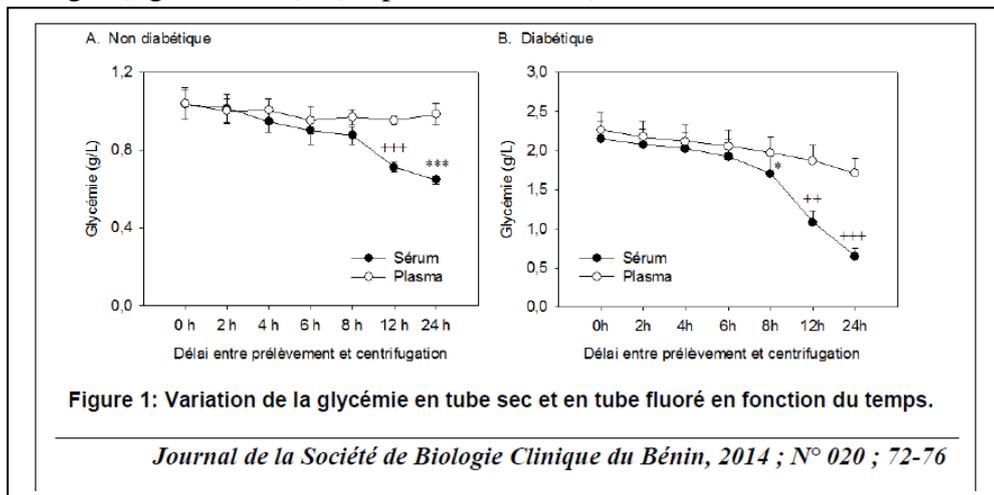


Figure 12 : Variation de la glycémie en tube sec et en tube fluoré en fonction du temps (Akpovi et al., 2014)

Dans le sérum et chez les participants non diabétiques, la glycémie ne change pas significativement pendant les 8 premières heures après le prélèvement. Cependant, elle baisse significativement 12h ( $p < 0,001$ ) puis 24h ( $p < 0,005$ ) après le prélèvement (fig. 1A). Chez les diabétiques, la glycémie baisse significativement ( $p < 0,05$ ) dès la 8e heure, puis à 12h ( $p < 0,001$ ) et 24h ( $p < 0,001$ ) après le prélèvement (fig.1B). (Akpovi et al., 2014)

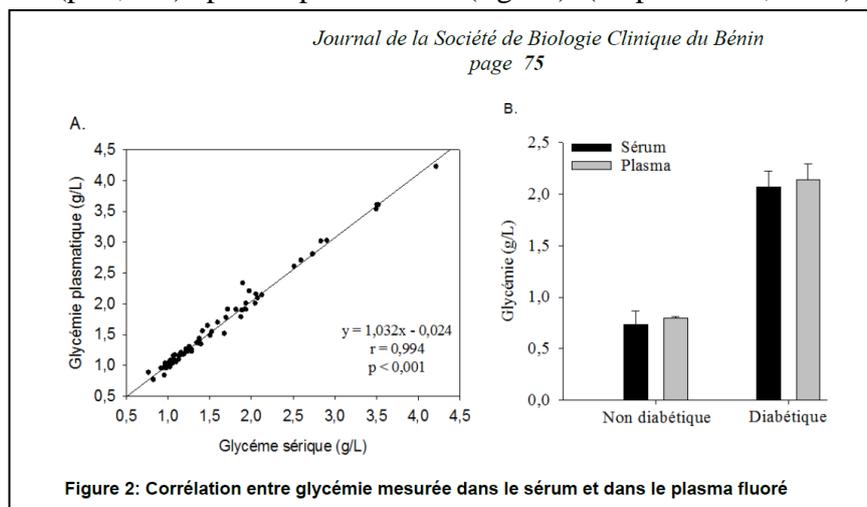


Figure 13 : Corrélation entre glycémie mesurée dans le sérum et dans le plasma fluoré (Akpovi et al., 2014).

Le taux de glycolyse ne varie pas significativement durant les 6 premières heures après prélèvement. (Akpovi et al., 2014)

Conclusion, Nous avons déterminé que la glycémie mesurée dans le sérum est équivalente à la glycémie dans le plasma fluoré entre l'heure du prélèvement et 6h après. Au-delà de 6h après le prélèvement, le taux de glycolyse est suffisamment élevé pour significativement biaiser la glycémie sérique. (Akpovi et al., 2014)

**Conclusion** : Nos résultats sont en accord parfait avec les résultats des travaux de Akpovi et al., 2014 ; nous n'avons enregistré aucune différence significative entre la glycémie dosé dans le plasma et dans le sérum après un délai de trois heures séparant le moment du prélèvement et le moment du dosage (avec ou sans anticoagulant).

#### **4.9.2 Résumé des travaux publié par WHO, 2002 et confrontation avec nos résultats**

Cette étude très riche et très documentée, étudie la variation de plusieurs centaines de variables dans le sang et l'urine. Elle s'intéresse particulièrement au délai de stabilité de chaque facteur étudié. Je rapporterai ici les recommandations de l'Organisation Mondiale de la santé concernant le dosage du glucose.

Selon ces travaux le glucose sanguin (glycémie) reste stable dans le sérum et le plasma sanguin deux jours (02J) à la température de 20-25°C (température ambiante). Voir tableau 000 page suivante.

**Conclusion** : Nos résultats sont en accord parfait avec les résultats des travaux publiés par WHO, 2002 ; nous n'avons enregistré aucune différence significative entre la glycémie dosé dans le plasma et dans le sérum après un délai de trois heures séparant le moment du prélèvement et le moment du dosage (avec ou sans anticoagulant).

En outre plusieurs autres travaux confirment aussi nos résultats. Selon **Bezuidenhout et al., 2016** « Les recommandations sont basées sur une étude de Zhang et al. sur les effets du temps de contact prolongé entre le sérum et le caillot sur la détermination des analyses couramment dosés. Ils ont constaté que les concentrations du potassium et du glucose présentaient des changements cliniquement significatifs après 3 h et que la concentration de phosphate était élevée après 6 h.» (Bezuidenhout et al., 2016)

Analytes	Samples					Stability					Reference		
	Serum	Heparinate Plasma	EDTA Plasma	Citrate Plasma	Whole blood Hep EDTA Citrate	Biological half-life	Stability in blood at room temperature	Stability in serum/plasma -20°C 4-8°C 20-25°C				Stabiliser	Remarks / Comments
Fructosamine	+	+	+			12 d	12 h ↗	2 m	2 w	3 d			183, 186
Galactose 1-p-uridyl-transferase (Beutler test)					+							Erythrocytes	
Gastrin	+	⊕*	+	(+)			2 h		1 w*	1 w*	*With aprotinin 2000 KIU/mL	Freeze serum as soon as possible	45, 186, 218
Gentamicin	+	+β, γ, δ	+β, γ, δ	(+)β		0.5 - 3 h (< 30 y of age) 1.5 - 15 h (> 30 y of age)	4 h	4 w	4 w	4 h			45
Glucagon	+	+	⊕				Unstable		1.5 d	30 h	Aprotinin 500-2000 KIU/mL	Stabilise	132
Glucose - capillary - venous	- -↘	- -↘	- -↘	- -↘	(+) ⊕	min min	10 min ↘ 10 min ↘	1 d* 1 d*	7 d* 7 d*	2 d* 2 d*	Fluoride, mono-iodoacetate, mannose	*Stabilised haemolysate and plasma	39, 56, 63, 186, 202, 216

### 5 Samples and Stability of Analytes

#### Key for tables

- ⊕ Recommended sample
- + Can be used without changes of result
- (+) Can be used with limitations (see comments, in case of citrated plasma this indicates the need to consider dilution by citrate (74)).
- Not recommended
- Decreased (↘) or increased (↗) values may be measured in comparison to recommended samples.
- Blank field means no data were found in literature.
- Greek letters refer to the information provided by diagnostic companies, numbers in brackets to the references.

#### Information provided by Diagnostic Companies

- α: ORTHO-Clinical Diagnostics; Vitros Systems
- β: Abbott; AxSYM, Architect
- γ: Roche Diagnostics; Hitachi, Elecsys, Modular
- γγ: Roche Diagnostics; Cobas®INTEGRA
- δ: Beckman-Coulter; Synchron LX/CX, Immage/Array, Access
- ε: Dade Behring; Dimension®, BN Systems, Stratus CS
- κ: DPC Immulite
- λ: Bio-Rad
- μ: Bayer; ADVIA Centaur/ACS 180

#### Stability and half-life times

- min = minute(s)
- h = hour(s)
- d = day(s)
- w = week(s)
- m = month(s)
- y = year(s)

Figure 14 : Stabilité du glucose sanguin selon (WHO, 2002).

Enfin rapportons ici les travaux de Oddoze et al., 2012. Rapportant les paramètres instable en biochimie : « 20 paramètres se sont révélés affectés par la conservation : 7 en biochimie dont le glucose. » (Oddoze et al., 2012)

Parmi les quels le glucose. Qui reste stable dans un délai de 4h dans le tube sec et le tube hépariné à 25°C. (voir figure suivante).

Tableau VI - Paramètres instables en biochimie.

PARAMETRES	To	VLTA		Tubes	SANG TOTAL		SÉRUM/PLASMA	
		%	USI <sup>1</sup>		4°C	25°C	4°C	25°C
Bicarbonate	28,9 mmol/l	± 8,61	± 2,5	Sec	24 h	24 h	24 h	24 h
				SST	24 h	24 h	6 h	4 h
				Héparinate li	24 h	24 h	6 h	4 h
Glucose	4,73 mmol/l	± 4,5	± 0,21	Sec	2 h	< 2 h	6 h	4 h
				SST	2 h	< 2 h	24 h	24 h
				Héparinate li	< 2 h	< 2 h	> 8 h*	4 h
				Na-Fluorure	24 h	24 h	24 h	24 h
Lactate	1,33 mmol/l	± 17,8	± 0,23	Na-Fluorure	24 h	6 h	24 h	24 h

USI : unité standard internationale.  
\* : testé jusqu'à 8 h. \*\* : testé jusqu'à 4 h.

Figure 15 : Quelques paramètres instables en biochimie. (Oddoze et al., 2012)

## 5 Conclusion

Notre présente étude s'intéresse à étudier l'effet du temps (délai écoulé entre le prélèvement sanguin et le dosage de la glycémie) d'une part et de l'anti coagulant (héparine) d'autre part, sur la stabilité de l'évaluation de la glycémie de patients dans la région de Brezina wilaya d'El Bayadh.

Notre stage c'est déroulé dans le laboratoire d'analyse de l'Etablissement Publics de Santé de Proximité (EPSP) Regagba Abdelrahmane, de la daïra de Brezina Wilaya d'El-Bayad.

Notre échantillon est composé de vingt (20) patients choisis aléatoirement parmi ceux qui se sont présentés au laboratoire. Il s'agit de huit (08) hommes 40% et de douze (12) femmes 60% ; âgés de 15 à 71 ans.

Les résultats de notre étude peuvent être résumés comme suit :

- 50% des patients de notre échantillon sont diabétiques.
- La tranche d'âge 21-40 ans est la plus touchée par le diabète : 45% de l'échantillon étudié.
- La prévalence du diabète est la même chez les deux sexes dans l'échantillon étudié.
- Les valeurs de la glycémie obtenues par le premier dosage (8 :30) et ceux obtenues par le second dosage (11:30) ne diffèrent pas significativement. **Les valeurs de la glycémie sont restées stable pendant trois heures.**
- Les valeurs de la glycémie obtenues par le premier dosage (8 :30) et ceux obtenues par le second dosage (11:30) ne diffèrent pas significativement dans le tube sec et dans le tube hépariné. **Donc les valeurs de la glycémie sont restées stable dans le sérum et dans le plasma.**

Il convient de noter que plusieurs études bibliographiques rapportent des différences significatives entre les valeurs de la glycémie dosées après un délai de trois heures séparant le moment du prélèvement et le moment du dosage (avec ou sans anticoagulant).

A la lumière de ces résultats, nous recommandons que les instances de santé publique établissent un guide adressé aux laboratoires d'analyses médicale publique et privé, concernant les conditions pré-analytiques, analytiques et post-analytiques pour différents analyses et ce pour garantir de bonnes pratiques de laboratoire et assurer la fiabilité des résultats des analyses.

Nous espérons que ce modeste travail a apporté une pierre à l'édifice du savoir, et qu'il contribue à la promotion de la biochimie médicale et de la santé publique dans notre pays.

## **6 Annexes**

# Annexe 01 : Fiche technique de dosage du glucose sanguin (glycémie) de la firme Biosystems

CODE 11803 1 x 50 mL	CODE 11803 1 x 200 mL	CODE 11804 1 x 500 mL	CODE 11538 1 x TL
-------------------------	--------------------------	--------------------------	----------------------

**CONSERVER A 2-8°C**

Reactif pour mesurer la concentration du glucose  
A utiliser uniquement in vitro dans les laboratoires cliniques

---

### PRINCIPE DE LA METHODE

Le glucose présent dans l'échantillon donne, après les réactions couplées décrites ci-dessous, un complexe coloré quantifiable par spectrophotométrie.

$$\text{Glucose} + \text{H}_2\text{O} + \text{H}^+ \xrightarrow{\text{glucose oxydase}} \text{Gluconate} + \text{H}_2\text{O}_2$$

$$2 \text{H}_2\text{O}_2 + 4 \text{-Aminosalicylate} + \text{Permanganate} \xrightarrow{\text{peroxydase}} \text{Quinonimine} + 4 \text{H}_2\text{O}$$

**CONTENU**

	CODE 11803	CODE 11803	CODE 11804	CODE 11538
A Reactif	1 x 50 mL	1 x 200 mL	1 x 500 mL	1 x TL
B Reactif	1 x 5 mL	1 x 20 mL	1 x 50 mL	1 x 5 mL

**COMPOSITION**

A. Reactif Phosphate 100 mmol/L, Phénol 5 mmol/L, glucose cristallin + 10 (20 mL, peroxydase + 1 (20 mL, 4-aminosalicylate 0.4 mmol/L, pH 7.5)

B. Etalon de Glucose/HexOxalimine: Glucose 100 mg/dL (5.55 mmol/L), urea 50 mg/dL, inuline 2 mg/dL. Etalon primaire en solution aqueuse.

**CONSERVATION**

Les reactifs et etalon doivent être conservés à 2-8°C. Bien refermer les flacons et éviter toute contamination lors de l'utilisation. Dans ces conditions ils resteront stables jusqu'à la date indiquée sur l'étiquette.

Indications de dégradation:

- Reactif: Présence de particules, turbidité, absorption du blanc supérieure à 0.150 à 500 nm (cuvette de 1 cm).
- Etalon: Présence de particules, turbidité.

**PREPARATION DES REACTIFS**

Reactif (A) et Etalon (B) sont prêts à l'emploi.

**EQUIPEMENT SUPPLEMENTAIRE**

- Bain Permanganate à 37°C
- Analyseur Spectrophotométrique ou photométrie pour lectures à 500 ± 20 nm

**ECHANTILLONS**

Sérum ou plasma obtenus par procédures routinières. Le sérum ou le plasma doit être obtenu rapidement des globules rouges pour éviter le glycolyse. Il est recommandé de passer au moins de sérum.

Le glucose sérique ou plasmatique est stable 5 jours à 2-8°C. L'héparine, EDTA, l'oxalate et le Turbine peuvent être utilisés comme anticoagulants.

Liquide ophthalmométrique présent par des procédures standards. Ce liquide ophthalmométrique peut être contaminé par des bactéries ou d'autres cellules, c'est pourquoi le glucose doit être analysé immédiatement.

**PROCEDURE**

- Placer les reactifs à température ambiante.
- Pipeter dans des tubes à essai (Note 1)

	Sérum	Etalon	Echantillon
Etalon glucose (B)	---	10 µL	---
Echantillon Reactif (A)	1.2 mL	1.2 mL	1.2 mL

- Bien agiter et incuber les tubes pendant 10 minutes à température ambiante (16-25°C) ou pendant 5 minutes à 37°C.
- Lire l'absorbance (A) de l'Etalon et de l'Echantillon face au blanc à 500 nm. La mesure est stable au moins 2 heures.

**CALCULS**

La concentration en glucose de l'échantillon est calculée selon la formule suivante:

$$\frac{A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{Etalon}}} \times C_{\text{Etalon}} = C_{\text{Echantillon}}$$

Si l'unité de glucose du sérum est désiré pour calculer (Note 2):

$\frac{A_{\text{Echantillon}}}{A_{\text{Etalon}}}$	$\times 100 = \text{mg/dL glucose}$
	$\times 1.55 = \text{mmol/L glucose}$

**VALEURS DE REFERENCE**

Sérum et plasma\*

Niveau de référence	75-105 mg/dL = 4.17-5.83 mmol/L
Niveau de limite	75-105 mg/dL = 4.17-5.83 mmol/L
Etalon ADA	75-105 mg/dL = 4.17-5.83 mmol/L

## GLUCOSE

**GLUCOSE**  
GLUCOSE OXYDASE/PEROXYDASE

Liquide ophthalmométrique\*

Etalon	45.45 mg/dL = 2.5244 mmol/L
ADA	45.45 mg/dL = 2.5244 mmol/L

Ces valeurs ne sont données qu'à titre indicatif. Chaque laboratoire doit établir ses propres valeurs de référence.

D'après le National Diabetes Data Group (NDDG), une élévation du glucose plasmatique à des leur supérieurs à 140 mg/dL (7.77 mmol/L) permettrait le diagnostic de diabète mellitus.

**CONTRÔLE DE QUALITE**

Il est recommandé d'utiliser les Sérum Contrôles de Biochimie niveau 1 (Code 18005, 18009 ou 18042) et il (Code 18007, 18010 ou 18043) pour vérifier la qualité de la méthodologie.

Chaque laboratoire doit établir ses propres protocoles et méthodes de Contrôle de Qualité interne afin d'apporter les modifications nécessaires en cas de déplacement des tolérances.

**CARACTERISTIQUES METROLOGIQUES**

- Limite de détection: 0.23 mg/dL = 0.0126 mmol/L
- Limite de linéarité: 500 mg/dL = 27.5 mmol/L. Pour des valeurs supérieures de la réaction au 1/4 en eau distillée et respect l'essai.
- Répétabilité (intra-essai):

Concentration moyenne	CV	n
10 mg/dL = 0.55 mmol/L	1.2%	20
20 mg/dL = 1.10 mmol/L	0.8%	20

- Reproductibilité (inter-essai):

Concentration moyenne	CV	n
10 mg/dL = 0.55 mmol/L	2.7%	20
20 mg/dL = 1.10 mmol/L	1.6%	20

- Sensibilité: 4 µL d'urine + 0.22 mL d'urine
- Ajout: Les résultats obtenus avec ce reactif n'ont pas montré de différences systématiques significatives par rapport aux résultats de référence (Note 2). Les détails des études comparatives sont disponibles sur demande.
- Interférences: Hématocrite (> 9 g/L), lipides (triglycérides > 1.25 g/L) et bilirubine (10 mg/dL) interfèrent sur la réaction. Certains médicaments et substances peuvent interférer\*.

Ces données ont été obtenues en utilisant un analyseur. Les résultats peuvent varier d'un instrument à l'autre ou en utilisant une technique manuelle.

**CARACTERISTIQUES DIAGNOSTIQUES**

Le glucose est la principale source d'énergie de l'organisme. L'insuline produite par les cellules des îlots de Langerhans facilite l'entrée du glucose dans les tissus cellulaires. Une déficience de l'insuline ou une diminution de son activité entraîne une augmentation du glucose sanguin. On rencontre des concentrations élevées de glucose sanguin chez des patients atteints de diabète Mellitus (insulino-dépendant ou non) et dans d'autres syndromes.<sup>1,2</sup>

L'hypoglycémie peut apparaître suite à un jeûne ou peut être due à certains médicaments, poison, des tumeurs congénitales du pancréas ou des gastro-entéro-entéro.<sup>1,2</sup>

Le diagnostic clinique ne doit pas être basé sur les conclusions d'un seul unique mais il doit intégrer l'ensemble des données cliniques et de laboratoire.

**NOTES**

- Des reactifs peuvent être utilisés dans la plupart des analyseurs automatiques. Demandez les informations à votre distributeur.
- L'utilisation avec filtres aqueux fournit peut entraîner des biais sur certains analyseurs. Dans ce cas il est recommandé d'adapter l'appareil avec un sérum dilué (Calibrateur Biochimique Code 18011 ou 18044).

**BIBLIOGRAPHIE**

- Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternate oxygen acceptor. Ann Clin Biochem 1969; 6: 24-27.
- Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Burtis CA, Ashwood ER, Bruns DE. WB Saunders Co, 2005.
- National Diabetes Data Group: Classification and diagnosis of diabetes mellitus and other categories of glucose intolerance. Diabetes 1979; 28:1039-1057.
- Young DE. Effects of drugs in clinical laboratory tests, 5th ed. AACCC Press, 2000.
- Friedman and Young. Effects of disease on clinical laboratory tests, 4th ed. AACCC Press, 2001.

WT 11031-01

**BioSystems S.A.** Costa Brava 30, 08030 Barcelona (Spain)

Quality system certified according to  
EN ISO 13485 and EN ISO 9001

072013

Annexe N°02 : Matériels.

1) réactif :



2) tubes héparine :



3) tubes secs :



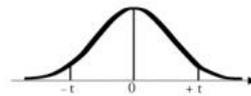
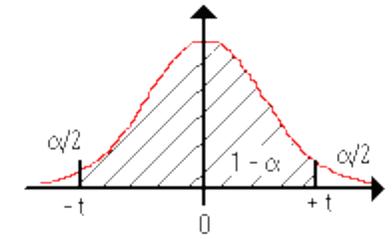
## Table de la Loi de Student

Cette table donne les fractiles de la loi de Student à  $\nu$  degrés de liberté : valeur  $t$  ayant la probabilité  $\alpha$  d'être dépassée en valeur absolue :  $P(-t < T < t) = 1 - \alpha$ . Ou :  $P(T < -t) = \alpha/2 = P(T > t)$

$\alpha$  bilatéral

$1 - \alpha/2$  bilatéral

$\nu$  (degré de liberté)



$\alpha$ d.d.l.	0,90	0,50	0,30	0,20	0,10	0,05	0,02	0,01	0,001
1	0,158	1,000	1,963	3,078	6,314	12,706	31,821	63,657	636,619
2	0,142	0,816	1,386	1,886	2,920	4,303	6,965	9,925	31,598
3	0,137	0,765	1,250	1,638	2,353	3,182	4,541	5,841	12,924
4	0,134	0,741	1,190	1,533	2,132	2,776	3,747	4,604	8,610
5	0,132	0,727	1,156	1,476	2,015	2,571	3,365	4,032	6,869
6	0,131	0,718	1,134	1,440	1,943	2,447	3,143	3,707	5,959
7	0,130	0,711	1,119	1,415	1,895	2,365	2,998	3,499	5,408
8	0,130	0,706	1,108	1,397	1,860	2,306	2,896	3,355	5,041
9	0,129	0,703	1,100	1,383	1,833	2,262	2,821	3,250	4,781
10	0,129	0,700	1,093	1,372	1,812	2,228	2,764	3,169	4,587
11	0,129	0,697	1,088	1,363	1,796	2,201	2,718	3,106	4,437
12	0,128	0,695	1,083	1,356	1,782	2,179	2,681	3,055	4,318
13	0,128	0,694	1,079	1,350	1,771	2,160	2,650	3,012	4,221
14	0,128	0,692	1,076	1,345	1,761	2,145	2,624	2,977	4,140
15	0,128	0,691	1,074	1,341	1,753	2,131	2,602	2,947	4,073
16	0,128	0,690	1,071	1,337	1,746	2,120	2,583	2,921	4,015
17	0,128	0,689	1,069	1,333	1,740	2,110	2,567	2,898	3,965
18	0,127	0,688	1,067	1,330	1,734	2,101	2,552	2,878	3,922
19	0,127	0,688	1,066	1,328	1,729	2,093	2,539	2,861	3,883
20	0,127	0,687	1,064	1,325	1,725	2,086	2,528	2,845	3,850
21	0,127	0,686	1,063	1,323	1,721	2,080	2,518	2,831	3,819
22	0,127	0,686	1,061	1,321	1,717	2,074	2,508	2,819	3,792
23	0,127	0,685	1,060	1,319	1,714	2,069	2,500	2,807	3,767
24	0,127	0,685	1,059	1,318	1,711	2,064	2,492	2,797	3,745
25	0,127	0,684	1,058	1,316	1,708	2,060	2,485	2,787	3,725
26	0,127	0,684	1,058	1,315	1,706	2,056	2,479	2,779	3,707
27	0,127	0,684	1,057	1,314	1,703	2,052	2,473	2,771	3,690
28	0,127	0,683	1,056	1,313	1,701	2,048	2,467	2,763	3,674
29	0,127	0,683	1,055	1,311	1,699	2,045	2,462	2,756	3,659
30	0,127	0,683	1,055	1,310	1,697	2,042	2,457	2,750	3,646
$\infty$	0,126	0,674	1,036	1,282	1,645	1,960	2,326	2,576	3,291

## 7 Références bibliographiques

- 01 Akpovi Casimir D.; SEGBO A.G. Julien; ANAGO A.A. Eugénie; MEDEHOUEYOU T.C. Marc; LOKO Frédéric. Valeur diagnostique de la glycémie en tube sec. Journal de la Société de Biologie Clinique du Bénin.; N° 020 ; 72-76. 2014.
- 02 Allart Nicolas. La fluorose dentaire : Étiologies, diagnostics et prise en charge au cabinet dentaire. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en chirurgie dentaire. université du droit et de la sante de Lille 2. Faculté de chirurgie dentaire. 2014.
- 03 Allay J.; Charrin M.; Plas C.; Rivière M.; Vanneste P.; Vanneste S. Analyse biologiques. Sujets de BTS corrigés. Biosciences et techniques. Collection dirigée par J. figarella et A Calas. 1<sup>er</sup> Edition. Doin. 2001. Pages
- 04 Andanson Stéphane; Mathieu Silberberg; Martine Turret; Christine Ravel et Yannick Faulconnier. Dosage spectrophotométrique du glucose plasmatique chez le ruminant : adaptation en microplaque et validation de la méthode de dosage. Le Cahier des Techniques (75) n°11 . 2012.
- 05 Arbouche. L.Z. Les effets du traitement substitutif post ménopausique chez la diabétique de type 2, sur le métabolisme des lipoprotéines et le métabolisme glucidique. Thèse de doctorat d'état en Médecine. Université d'Alger, Algérie. 16-23. 2007.
- 06 Baalbaki Layal. Les traitements innovants du diabète de type 1 : Focus sur la greffe des îlots de Langerhans (son historique, son optimisation et ses défis réglementaires). Thèse présentée pour l'obtention du titre de Docteur en pharmacie diplôme d'état. Université Joseph Fourier. Faculté de Pharmacie de Grenoble. 2012.
- 07 Baâli F. et Delloum S. Evaluation de l'activité hypoglycémiant d'une plante spontanée de la région de M'sila ( Marrubium vulgare L.). Mémoire Présenté a la Faculté des sciences. Département des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV) pour obtenir Le Diplôme des Etudes Supérieures en Biologie (DES). Option : Biochimie. Promotion : 2009 / 2010.
- 08 Bernard Maunand. Diabeto l'infirmière en diabétologie. mai 1993.
- 09 Bezuidenhout Karla; Rensburg Megan A; Hudson Careen L; Essack Younus and M Davids Razeen. The influence of storage time and temperature on the measurement of serum, plasma and urine osmolality. Annals of Clinical Biochemistry. Vol. 53(4) 452–458. 2016.
- 10 Bouali Sabrina et Menad Malika. Intérêts des dosages des paramètres biochimiques et hématologiques au niveau des services des urgences (EPH d'Ain Tedles - Mostaganem). Mémoire de fin d'études pour l'obtention du diplôme de Master en biologie. Spécialité : Biochimie Appliquée. Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie. Département de biologie. 2018.
- 11 Boukertouta Sami et Hadeif Souad. Evaluation des paramètres du stress oxydant chez les diabétiques insulino-dépendants. Mémoire de Master. Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie. Filière : Biologie. Spécialité/Option : Biologie moléculaire et cellulaire/Immunologie approfondie. Université 8 Mai 1945 Guelma. Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de l'univers. Département de sciences de la nature et de la vie. Juin 2014.
- 12 Boulanger P., J. Polonovski, F Tay eau, P. Mandel et G. Biserte. Biochimie médicale. Pp : 176. 1968

- 13 Breuval Adeline. La greffe d'îlots de Langerhans microencapsules comme traitement du diabète de type 1. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Lille. Faculté de Pharmacie de Lille. 2019.
- 14 Cambus J.P. et Boneu B. Prescription et surveillance des antithrombotiques. Physiopathologie des thromboses. Traitements antithrombotiques. *4 dossiers type ECN qui sont à préparer pour l'enseignement dirigé*. Edition 2008-2009.
- 15 Caquet René. Avec la collaboration de Anne Bru. Guide infirmier des examens de laboratoire. Ed Masson. 356p. 2008.
- 16 Caquet René. Analyses de laboratoire en odontostomatologie. Ed Masson. 222pages. 2012.
- 17 Chevenne D ; Fonfrède M. Actualité sur les marqueurs biologiques du diabète Immun anal. Biol. Spec. 16. P 215-229. (2001).
- 18 Chippaux Jean-Philippe. Pratique des essais cliniques en Afrique. IRD Éditions Institut de Recherche pour le Développement. Collection Actiques. Paris. 2004. 318 pages.
- 19 Coutinho Mayra S., Camilo L. M. Morais, Ana C. O. Neves, Fabrício G. Menezes and Kássio M. G. Lima. Colorimetric Determination of Ascorbic Acid Based on Its Interfering Effect in the Enzymatic Analysis of Glucose: An Approach Using Smartphone Image Analysis. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, March, 2017.
- 20 Djeghlaf Lyas. Conception, modélisation et réalisation de microcapteurs pour l'analyse de la sphère buccale. Application à la détection du glutamate. Thèse en vue de l'obtention du Doctorat de l'université de Toulouse. Délivré par l'Université Paul Sabatier Toulouse III. Ecole Doctorale : Génie Electrique, Electronique, Télécommunications. Discipline : Micro et Nano Systèmes. 2013.
- 21 Drame Bakary. Aspect épidémiologique, clinique et biologique de la transfusion sanguine au centre de sante de référence de Banamba. Thèse pour obtenir le grade de Docteur en Médecine (Diplôme d'Etat). Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (USTTB). Faculté de Médecine et d'Odontostomatologie (FMOS). 2019.
- 22 Gilles Raymond ; Anctil Michel ; Baguet Fernand ; Charmantier Mireille et Guy ; Gilles Raymond Jr. ; Péqueux André ; Plumier Jean-christophe et Sébert Philippe. Physiologie animale. Editions De Boeck université. 2006.
- 23 Goodenow, T.J, Malarkey, W.B. Leukocytosi, s hypoglycemia. Guide de prélèvement de sang par ponction veineuse aux fin d'analyse. *JAMA* 1997;237 : 1961-1962
- 24 Hulot Dorian. Mise en place d'une méthode d'évaluation de l'insulinosécrétion chez les patients diabétiques de type 2 non insulines dans une perspective d'adaptation thérapeutique. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. U.F.R de médecine et de pharmacie de Rouen. Année universitaire 2013–2014.
- 25 Idrissi Oudghiri Meriem. Gestion des non-conformités de la phase pré-analytique au laboratoire de parasitologie mycologie de l'HMIMV. Thèse présentée pour l'obtention du Doctorat en Pharmacie. Université Mohammed V. Faculté de médecine et de pharmacie –Rabat. 2012.
- 26 Janssens. Répertoire d'analyse de biologie clinique ; P49, P56, P57. 2009.
- 27 Makhlof Hadja et Kacimi Nour Elhouda. Apport du Système d'Information Géographique dans la répartition du diabète dans la ville de M'sila-Algerie. Mémoire présenté pour l'obtention du diplôme de Master Académique en écologie des zones arides et semi aride. Université Mohamed Boudiaf - M'sila. Faculté des Sciences. Département des Sciences de la Nature et de la Vie. Année universitaire : 2018 /2019.
- 28 Manuel de prélèvement clinique. Centre hospitalier de Mouscron.

- 29 Mignot Léo et Bertin Alexandre. Comprendre, construire et interpréter les statistiques. Petit précis d'usage des statistiques à l'attention des non statisticiens. Note méthodologique. AEC. Agence des initiatives numériques. Version du 30 mars 2012.
- 30 Monneret Denis; Godmer Alexandre; Le Guen Ronan; Bravetti Clotilde; Emeraud Cecile; Marteau Anthony; Alkouri Rana; Mestari Fouzi; Dever Sylvie; Imbert-Bismut Françoise; and Bonnefont-Rousselot Dominique. Stability of Routine Biochemical Analytes in Whole Blood and Plasma From Lithium Heparin Gel Tubes During 6-hr Storage. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 30: 602–609, 2016.
- 31 Moulasserdoun khedidja. Implantation des bonnes exécutions d'analyse au sein du service d'hémobiologie du centre hospitalo-universitaire d'Oran. Thèse de doctorat en sciences médicales. Université Ahmed Ben Bella d'Oran. Faculté de médecine. 2017.
- 32 O.P.T.M.Q Ordre professionnel des technologistes médicaux du Québec ; Ordre des infirmières et infirmiers auxiliaires du Québec (OIIAQ) ; Ordre des sages-femmes du Québec (OSFQ) ; Ordre des technologues en imagerie médicale, en radio-oncologie et en électrophysiologie médicale du Québec (OTIMROEPMQ) ; Ordre professionnel des inhalothérapeutes du Québec (OPIQ). Guide de prélèvement de sang Par ponction veineuse aux fins d'analyse. 81pages. 2018.
- 33 Oddoze C.; Lombard E. ; Portugal H. Conservation des échantillons biologiques avant et après centrifugation : effet de la nature des tubes, de La température et d.u délai aYarrt analyse. Feuilles de biologie. Vol LIII, N°308. Septembre 2012.
- 34 Ouhaibi-Djellouli Hadjira. Etude des déterminants génétiques et environnementaux du diabète de type 2 : implications des gènes TCF7L2 et NPPB. Thèse pour l'obtention du Diplôme de doctorat. Spécialité : Génétique moléculaire. Université Oran 1 Ahmed Ben Bella. Faculté des sciences de la nature et de la vie. Département de biotechnologie. 2017.
- 35 Pascal D. Guide pratique des analyses médicales. 3<sup>ème</sup> Ed Maloine. pp : 298-299. 2002.
- 36 Pichard J.F. Actes de l'université d'été de statistique. Publication de la commission inter-irem. Enseignement de la statistique et des probabilités. Edité par Pichard j.f. Irem de Rouen. La Rochelle 1-5 Septembre 1992.
- 37 Pierre Camoun. Appareil et méthode en biochimie et biologie moléculaire. 1997.
- 38 Rico A, Braun J. Biochimie des substrats énergétiques au cours du diabète pancréatique. *Pratique Médicale et Chirurgicale de l'Animal de Compagnie*. 20 : 353-356. 1985.
- 39 Rodier. J. Biochimie pratique. 1983.
- 40 Secardin Yves. Aide mémoire du technicien de laboratoire. L'essentiel en fiches pour les étudiants et les professionnels. Ed Masson. 2008.
- 41 Sherwood Lauralee. Physiologie humaine. Traduction de l'édition américaine de Fabien Ectors. 3<sup>ème</sup> édition. Ed de Boeck. 2015.
- 42 Siby Sidi. Étude de la variation des paramètres biochimiques et hématologiques dans le district de Bamako. Thèse présentée pour l'obtention de grade de Docteur en médecine (diplôme d'état). Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odonto-Stomatologie. Université de Bamako. 2008.
- 43 Spinass G.A ; Lehmann R. Diabète sucré : Diagnostic, classification et pathogène. 2001

- 44 Takoua Hamdi. Analyse de l'évolution de la glycémie des patients diabétiques insulino-dépendants. École doctorale sciences et technologie de l'ENSIT. École doctorale de L'Université de Toulon. Thèse en cotutelle présentée publiquement à l'École Nationale Supérieure d'Ingénieurs de Tunis, pour obtenir le grade de Docteur en Génie Electrique de l'École Nationale Supérieure d'Ingénieurs de Tunis et le grade de Docteur en (Automatique, signal, productique, robotique) de l'université de Toulon. 2019.
- 45 Trinder P. Determination of Glucose in Blood using Glucose Oxidase with an alternative oxygen acceptor. Ann. din. Biochem. 6,24. 1969.
- 46 Valdiguié Pierre. Coordonnateur. Biochimie clinique. Collection Biologie médicale. 2<sup>ème</sup> édition. France de la Farge ; Marie-Laure Solera ; Michel Lagente ; Jacques de Graeve ; Thierry Levade. Avec la collaboration de : Eve Duplantier ; Danièle Dominguez. Editions médiales internationales. 340 pages. 2000.
- 47 Vaubourdolle Michel Biochimie Hématologie. 3<sup>ème</sup> édition. Collection dirigée par Michel Vaubourdolle. Collection : Le moniteur Internat. Pharmacie, Biologie, Concours de l'internat, Formation continue. Tome 2. Ed Wolters Kluwer. France. 2007.
- 48 William J.M. ; Marshall S. ; Stephen K. ; Bongret. Biochimie Médical Physiologie. Et Diagnostic p : 385. 2005.
- 49 World Health Organization (WHO). Use of anticoagulants in diagnostic laboratory investigations. WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2. 2002.