

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة 8 ماي 1945 قالمة

Université 8 Mai 1945 Guelma

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité/Option : Biochimie Appliquée

Département : Biologie

Thème

Dosage de quelques paramètres biochimiques dans le sang et dans la salive.

Présenté par :

- **BENREDJEM Nourhane**
- **HASNI Meryem**
- **LADASSI Nesrine**
- **SAIDIA Rania**

Devant le jury composé de :

Présidente : Dr YEDJED Sihem

Université de Guelma

Examinatrice : Dr BOUSSENANE Nadia H

Université de Guelma

Encadrant : Dr BRAIK Asma

Université de Guelma

Juin 2022

Remerciement

Nous tenons à remercier madame « YEDJED Sihem » Docteur à l'université de 08 Mai 1945 Guelma, pour l'honneur qu'elle nous accorde en présidant ce jury.

Nos gratitudes vont également à madame « BOUSSENANE Nadia H » Docteur à l'université de 08 Mai 1945 Guelma, pour avoir accepté de faire partie de ce jury et d'examiner ce modeste travail.

Nous adressons nos chaleureux remerciements à Monsieur « GOURI Adel » Professeur en biochimie au CHU ibn Rochd Annaba, qui nous a offertes l'opportunité d'effectuer notre pratique dans les meilleures conditions.

Nos remerciements vont vivement à Monsieur « MELLOUKI Adel » pour ses conseils et sa disponibilité.

Nous tenons à saisir cette occasion et adresser nos profonds remerciements aux responsables et au personnel de laboratoire de biochimie du CHU ibn Rochd Annaba.

Nous remercions également toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin au bon déroulement de ce travail.

Enfin, nous ne saurons jamais trouver les mots justes pour exprimer nos gratitudes envers notre directrice Madame « BRAIK Asma » Docteur à l'université 8 mai 1945 de Guelma, ce travail ne serait pas aussi riche et n'aurait pas pu voir le jour sans votre encadrement, vos conseils avisés, et votre patience. Vous êtes un exemple de courage, de joie de vivre et de dévouement. Nous ne vous remercierons jamais assez de ce que vous avez fait pour nous durant toutes ces années.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail

A ma grand-mère

*A mes parents qui m'ont soutenue dans les moments de doute,
qui m'ont rassurée dans les moments difficiles, et qui m'ont
appris à ne rien lâcher. J'espère que vous êtes fiers de moi*

*A ma sœur Malak et mon frère Amir, pour leur indéfectible
amour*

*A mes tantes : Rima, Asma et Ryma qui m'ont encouragée
durant ces années*

*A mes chères amies : Rayene, Belkiss, et Wafa pour leur
présence dans les bons comme dans les mauvais moments*

*A mes collègues : Meryem, Rania et Nesrine, ce fut un plaisir
de vous rencontrer et de travailler avec vous*

Nourhane

*C'est avec profonde gratitude et sincères mots, que je
dédie ce modeste travail de fin d'étude*

*A mes chers parents ma mère et mon père pour leur patience,
leur amour, leur soutien et leurs encouragements.*

A ma sœur Abir.

A mes frères : Yacine et Achraf.

*A ma tante Mayada, son époux Samir et ses enfants pour ses
soutiens moral et leurs conseils précieux tout au long de mes
études.*

*A mes amies : Rayene, Yassemine et Ines pour leurs aides et
supports dans les moments difficiles.*

A tous mes amis de promotion de 2^{ème} année Master 2022

A mes camarades : Meryem, Nourhane et Nesrine.

A toute personne qui occupe une place dans mon cœur.

Merci.

Rania

J'ai l'honneur de dédier cet humble travail particulièrement à mes parents pour tout ce qu'ils ont fait pour que je puisse arriver à ce stade.

A mon très cher père, pour ses encouragements, son soutien, surtout pour son amour et son sacrifice.

A ma très chère mère, pour son affection et la confiance qu'elle m'a accordée.

A mes sœurs Imane, Khawla et khadija qui m'ont toujours soutenue et encouragé durant ses années d'études.

A mes tantes Warda et Nassima pour leur motivation et leur amour.

A ma cousine Soumeya, qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles.

A mes chères amies : Serine et Djihane pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A mes collègues : Rania, Nourhane et Nesrine, j'ai l'honneur de travailler avec vous.

Meryem

Je dédie ce mémoire

*A mon chère père pour son soutien son affection et la confiance qu'il m'a
accordé.*

*A la mémoire de ma chère mère pour ton amour et ton encouragement pour moi,
j'aimerais*

*Que tu sois à mes côtés aujourd'hui. Que dieu protège ton âme dans son vaste
paradis.*

A mon chère frère SEBTI

A ma deuxième mère qui est ma sœur et mon amie

A mes chers grand-père et grand-mère qui je souhaite une bonne santé.

A mon cher fiancé TAMER et toute sa famille.

A tous membres de ma famille

A mes chères amies proches : AMEL, AIDA, ASMA, RIMA

*A mes chères amies : LOUBNA, AFEF, AHLEM, JIHEN, KAWTER, TAIMA,
AYA,*

OMAIMA, ZAYNEB, KHAWLA, SANA et AMANI.

A mes collègue : Nourhane, Meryem, et Rania.

NESRINE

Résumés

Résumé

L'utilisation de la salive comme biofluide contenant des biomarqueurs de diagnostic présente de nombreux avantages. Son prélèvement est rapide, facile, peu coûteux et non invasif contrairement au sang. L'objectif de ce travail est de comparer et de corréler des taux de quelques paramètres biochimiques, lactate déshydrogénase (LDH), phosphatase alcaline (PAL), urée, protéines totales, sodium (Na^+) et potassium (K^+) dans le sang et dans la salive chez trente et un (31) individus sains sans antécédents médicaux au niveau du laboratoire de Biochimie du CHU Ibn Rochd à Annaba. Notre étude a montré une corrélation négative entre tous les paramètres plasmatiques et salivaires sauf que pour la PAL et l'urée qui ont une corrélation positive significative. Les taux moyens de la LDH, de l'urée et de potassium étaient significativement plus élevés dans la salive que dans le plasma. Les taux de la PAL, des protéines totales et de sodium étaient significativement plus faibles dans la salive par rapport au plasma. Nous concluons que l'urée salivaire peut être un outil promoteur pour la surveillance de l'état de santé, tandis que les autres paramètres nécessitent des études complémentaires.

Mots clés : Biomarqueurs, Sang, Salive, Lactate Déshydrogénase, Phosphatase Alcaline, Urée, Protides, Sodium, Potassium.

Abstract

The use of saliva as a biofluid containing diagnostic biomarkers has many advantages. Its collection is fast, easy, inexpensive and non-invasive unlike blood. The aim of this work is to compare and correlate the levels of some biochemical parameters (lactate dehydrogenase (LDH), alkaline Phosphatases (ALP), urea, total proteins, sodium (Na⁺) and potassium (K⁺)) in blood and saliva in thirty-one (31) healthy individuals without medical history at the Biochemistry Laboratory of the CHU Ibn Rochd in Annaba. Our study showed a negative correlation between all plasma and saliva parameters except for ALP and urea, which had a positive and statistically significant correlation only for urea. The mean levels of LDH, urea and potassium were higher in saliva than in plasma, and the levels of ALP, total proteins and sodium were lower in saliva than in plasma. These differences were considered significant ($p < 0.05$) in contrast to LDH. This leads to the conclusion that salivary urea is a promising tool for monitoring general health status, while the other parameters require further study.

Key words: Biomarkers, Blood, Saliva, Lactate dehydrogenase, Alkaline Phosphatases, Urea, Protein, Sodium, Potassium.

الملخص

استخدام اللعاب كسائل حيوي يحتوي على مؤشرات بيولوجية تشخيصية له مزايا عديدة .جمعه سريع، سهل، غير مكلف وغير جراحي على عكس الدم .الهدف من هذا العمل هو مقارنة و ربط مستويات بعض المتغيرات البيو كيميائية (phosphatase alkaline (LDH lactate déshydrogénase) () (PAL اليوريا، البروتينات الكلية، الصوديوم و البوتاسيوم) في كل من دم و لعاب واحد و ثلاثين من الأفراد الأصحاء الذين ليس لديهم تاريخ طبي على مستوى مخبر التحاليل الطبية في المركز الاستشفائي الجامعي ابن رشد بعنابة .أظهرت دراستنا وجود علاقة ارتباط سلبية بين جميع معاملات البلازما واللعاب باستثناء PAL واليوريا اللتين لهما علاقة ارتباط موجبة ودلالة إحصائية لليوريا فقط .كان متوسط مستويات LDH ، اليوريا والبوتاسيوم أعلى في اللعاب مقارنة بالبلازما بينما مستويات كل من PAL ، البروتين الكلي والصوديوم كانت أقل في اللعاب مقارنة بالبلازما .تعتبر هذه الاختلافات هامة ($p > 0,05$) على عكس LDH . هذا ما يؤدي إلى استنتاج مفاده أن اليوريا اللعابية هي أداة فعالة لمراقبة الصحة العامة، بينما تتطلب المتغيرات الأخرى دراسات إضافية .

الكلمات المفتاحية: المؤشرات الحيوية، الدم، اللعاب، lactate déshydrogénase,

, phosphatase alkaline البروتينات الكلية، الصوديوم، البوتاسيوم .

Table des matières

Résumés	
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations.....	
Introduction	1
Revue bibliographique.....	
I. Biomarqueurs de la salive et santé générale.....	3
1. Glandes salivaires.....	3
1.1. Types des glandes salivaires	3
1.2. Sécrétion de la salive	5
2. Salive	7
2.1. Définition	7
2.2. Rôle de la salive	8
2.3. Caractéristiques physico-chimiques de la salive.....	10
2.4. Composition de la salive.....	12
2.5. Méthodes de collection de la salive.....	18
2.6. Biomarqueurs de la santé dans la salive	20
II. Biomarqueurs sanguins et santé	25
1. Le sang.....	25
1.1. Définition et fonction	25
1.2. Composition.....	26
2. Biomarqueurs de la santé générale dans le sang	30
2.1. Maladies parodontales	30
2.2. Maladies rénales.....	31

2.3. Maladies cancéreuses	33
Partie Pratique.....	
1. Echantillonnage et collecte des données	36
1.1. Période et lieu d'étude.....	36
1.2. Population d'étude	36
1.3. Recueil des données.....	36
2. Matériel et méthodes.....	37
2.1. Collecte de la salive	37
2.2. Prélèvement sanguin	37
2.3. Equipements et réactifs	38
2.4. Méthodes de dosage de LDH, PAL, l'urée et protéines totales	40
2.4.1. Dosage de Lactate déshydrogénase LDH.....	41
2.4.2. Dosage de la Phosphatase alcaline PAL.....	41
2.4.3. Dosage de l'urée.....	42
2.4.4. Dosage des protéines totales	42
2.4.5. Dosage des protéines salivaires.....	43
2.5. Méthode de dosage des ions Na ⁺ , K ⁺	43
2.6. Analyse statistique	44
Résultats et Interprétation.....	
1. Comparaison et corrélation de l'activité de la LDH dans le sang et la salive	46
2. Comparaison de l'activité de la (PAL) entre le plasma et la salive	47
3. Comparaison et corrélation de l'activité de l'urée dans le sang et la salive	48
4. Comparaison et corrélation de taux des protéines dans le sang et la salive	49
5. Comparaison et corrélation de Sodium (Na ⁺) / Potassium (K ⁺) dans le sang et la salive ..	50
Discussion	52

Conclusion **59**

Références bibliographiques..... **60**

Annexes.....

Liste des figures

Figure 1 : Localisation des principales glandes salivaires chez l'homme	3
Figure 2 : Distribution des glandes salivaires mineures dans la cavité orale	5
Figure 3 : Schéma des fonctions de la salive.....	8
Figure 4 : Variations circadiennes de la température orale, d'après DAWES	10
Figure 5 : L'utilisation clinique de la salive dans le diagnostic des maladies locales et systémiques.....	21
Figure 6 : Les composants du sang chez un adulte normal.....	26
Figure 7 : Différenciation des cellules sanguines à partir des cellules souches hématopoïétiques pluripotentes	30
Figure 8 : Prélèvement salivaire	37
Figure 9 : Prélèvement sanguin	38
Figure 10 : Centrifugeuse Eppendorf® Centrifuge 5702/5702R/5702 RH	38
Figure 11 : COBAS INTEGRA® 400 Plus / Analyseur Smartlyte® Plus	39
Figure 12 : Préparation des échantillons pour analyse par l'automate COBAS INTEGRA 400 Plus.....	40
Figure 13 : Système de commande de l'automate COBAS INTEGRA 400 Plus	40
Figure 14 : Etapes du dosage des ions Na ⁺ et K ⁺ par l'analyseur Smartlyte® Plus	44
Figure 15 : Comparaison entre le taux de la LDH dans le sang et la salive.....	46
Figure 16 : Corrélations de taux de la LDH entre le plasma et la salive	46
Figure 17 : Comparaison entre le taux de la (PAL) dans le plasma et la salive	47
Figure 18 : Corrélations de l'activité de la (PAL) entre le plasma et la salive	48
Figure 19 : Comparaison entre le taux d'urée dans le sang et la salive.	48
Figure 20 : Corrélations des taux de l'urée entre le plasma et la salive	49
Figure 21 : Comparaison entre le taux des protéines dans le sang et la salive.....	49
Figure 22 : Corrélations du biomarqueur Protéines totales dans le plasma sanguin et dans la salive	50
Figure 23 : Comparaison entre les taux de Sodium (Na ⁺) et Potassium (K ⁺) dans le sang et la salive.	51

Figure 24 : Corrélations des taux du biomarqueur Na ⁺ et K ⁺ dans le plasma sanguin et dans la salive	51
---	----

Liste des tableaux

Tableau 1 : Contribution des différentes glandes salivaires au volume de la salive de la bouche entière.....	7
Tableau 2 : Tableau récapitulatif de la viscosité salivaire	11
Tableau 3 : Réactifs de dosages utilisés	39

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
AAs	Acide acétylsalicylique
ADN	Acide DésoxyriboNucléique
ADNc	Acide DésoxyriboNucléique circulant.
ADNtc	Acide DésoxyriboNucléique tumoral circulant.aMMP-8 : métalloprotéinase 8 de la matrice orale
AM	Adrénomédulline
ARNm	Acide ribonucléique messenger.
ARNs	Acides ribonucléiques
ATPase	Adénosine triphosphatase
ATP6AP1	ATPase H ⁺ Transporting Accessory Protein 1
Ca²⁺	Ion calcium
Cl⁻	Ion chlorure
CRP	Protéine C réactive
CTC	Les cellules tumorales circulantes
CA-125	Antigène du cancer 125
CO₂	Dioxyde de carbone
EDTA	Acide éthylène diamine tétra acétique
F⁻	Ion fluorure
FAP	Facteur d'activation plaquettaire

FFP	Plasma frais congelé
FEMg	Fractional Excretion of Magnesium
g	Gramme
g/L	Gramme par litre
GLDH	Glutamate déshydrogénase
HCO₃⁻	Bicarbonate
HPO₄²⁻	Acide phosphorique
H₂PO₄⁻	Ion dihydrogénoPhosphatase
HPLC	Chromatographie liquide à haute performance
LDH	Lactate déshydrogénase
L	Litre
I⁻	Ion iodure
IFN-γ	L'interféron-γ
IgA	Immunoglobuline A
IgG	Immunoglobuline G
IL	Interleukine
IR	Insuffisance rénale
IH	Insuffisance hépatique
IC	Insuffisance cardiaque
K⁺	Ion potassium
Kg	Kilogramme
KDa	Kilodalton

Km	Kilomètre
mEq/l	Milliéquivalent par litre
MG1	Mucine multimérique de haut poids moléculaire
MG2	Mucine monomère de faible poids moléculaire
Mg²⁺	Ion magnesium
mg/dL	Milligramme par decilitre
miR-21	Micro-ARN 21
MiR-141	MicroRNA 141
MOsm	Concentration osmotique (ou osmolarité)
MRC	Maladie rénale chronique
MMP-8	Matrice métalloprotéinase 8
mmol/l	Millimole par litre
MUC16	Mucine 16
Na⁺	Ion sodium
ng/ml	Nanogramme par millilitre
NO	Oxyde nitrique
NH₄⁺	Ammonium
NO₂⁻	Ion nitrite
NO₃⁻	Ion nitrate
NO₄⁻	Peroxy-nitrate
NaCL	Nicotinamide
NADH	Adénine dinucléotide

NAD⁺	Forme oxydée de NADH
Nm	Nanomètre
O₂	Oxygène
PAI-1	Inhibiteur de l'activateur de plasminogène de type 1
Pb	Paires de bases
PEHD	Polyéthylène haute densité
pH	Potentiel hydrogène
PO₄³⁻	Ion Phosphatase
PF24	Plasma congelé dans les 24 heures
PF24RT24	Plasma frozen within 24h after phlebotomy held at room temperature for up to 24h
PRP	Protéines riches en proline
PRG	PRP glycosylées
PAL	Phosphatase Alcaline
RPM	Rotation par minute
R	Coefficient de corrélation
SCN⁻	Ion thiocyanate
SD	Standard deviation (écart type)
SEP	Sclérose en plaques
SLPI	Secretory leukocyte protease inhibitor
SRP	Détartrage et surfaçage radiculaire
TG	Triglyceride
TLR-4	Toll Like Receptor

TNF-α	Facteur de nécrose tumorale α
TRP	Potentiel de récepteur transitoire
UI	Unité enzymatique
μg	Microgramme
$\mu\text{mol/l}$	Micromole par litre
μKat	Micro katal
VE	Vésicules extracellulaires

Introduction

Introduction

Le terme "biomarqueur" désigne une vaste sous-catégorie de signes médicaux et des indications objectives de l'état de santé observées de l'extérieur du patient qui peuvent être mesurés de manière précise et reproductible. Il existe plusieurs définitions plus précises des biomarqueurs dans la littérature. En 1998, le *National Institutes of Health Biomarkers Definitions Working Group* a défini un biomarqueur comme "une caractéristique mesurée et évaluée objectivement comme indicateur de processus biologiques normaux, de processus pathogènes ou de réponses pharmacologiques à une intervention thérapeutique (Strimbu and Tavel, 2010).

Les biomarqueurs ont de nombreuses autres applications précieuses dans la détection des maladies, la surveillance de l'état de santé et la stadification ou classification de l'étendue de la maladie (Arthur et al., 2001).

De plus, la pratique clinique et la recherche s'appuient sur le prélèvement de différents fluides corporels, dont le sang, l'urine, le liquide céphalorachidien et le liquide cérébro-spinal pour répondre à des questions importantes sur l'état de santé et les risques des patients. Malgré leurs efficacités et diversité ils peuvent représenter un gros inconvénient pour certaines personnes avec une bélonéphobie (peur des aiguilles), une hémato-phobie (peur du sang), ou d'autres phobies car ils sont des méthodes invasives et douloureuses (Lasisi and Lawal, 2019).

Le début des recherches visant à déchiffrer le milieu salivaire, donne un aperçu du diagnostic salivaire et du développement de biomarqueurs. Ce faisant, les fluides oraux sont présentés comme une alternative non invasive et facilement accessible aux méthodes de diagnostic traditionnelles et pas seulement comme un composant essentiel du processus digestif. Déterminer que la salive est un moyen crédible d'évaluation de l'état de santé représente une avancée considérable dans le domaine des soins de santé, qui pourrait déboucher sur d'énormes avantages translationnels et des opportunités cliniques importantes (Schafer et al., 2014).

Dans ce contexte, notre travail permet d'explorer la possibilité que pourrait avoir la salive comme une source fiable de biomarqueurs biochimiques qui sont capables de détecter certaines maladies par rapport au sang.

Afin d'atteindre notre objectif nous avons suivi une méthode basée sur le dosage de quelques paramètres biochimiques (Lactate Déshydrogénase LDH, Phosphatase Alcaline PAL, Urée, Protides, Sodium Na^+ et Potassium K^+) dans deux fluides corporels différents : la salive et le sang. Une comparaison et une corrélation de ces paramètres entre le sang et la salive ont été effectuées.

Notre mémoire est structuré en deux parties ; la première comporte la revue bibliographique dans laquelle nous apporterons des notions théoriques sur les biomarqueurs salivaires et sanguins et leur utilité pour la santé générale. Dans la seconde, nous décrirons les méthodes suivies et le matériel utilisé au cours de la réalisation de ce travail et nous présenterons les principaux résultats et leur discussion, ainsi qu'une conclusion de notre travail.

Revue bibliographique

*Biomarqueurs de la salive et santé
générale*

I. Biomarqueurs de la salive et santé générale

1. Glandes salivaires

Les glandes salivaires constituent un groupe d'organes sécrétant une substance aqueuse : la salive. Elles sont des réseaux complexes de tubes creux et d'unités sécrétoires qui se trouvent dans des endroits spécifiques de la bouche et qui présentent des spécificités individuelles en fonction de leur emplacement (**Miletich, 2010**).

1.1. Types des glandes salivaires

Les glandes salivaires sont paires et symétriques : ce sont principalement, les glandes parotides, submandibulaire (sous maxillaire) et sublinguale. Il existe d'autres glandes toutes petites : labiales, molaires et palatines, qui sont également réparties dans la cavité buccale(**Carnot, 2018**) .

1.1.1. Glandes majeures

Les glandes salivaires principales sont classiquement décrites comme des glandes situées dans des loges anatomiques individualisées (figure 01) (**Bendrihem and Vacher, 2012**).

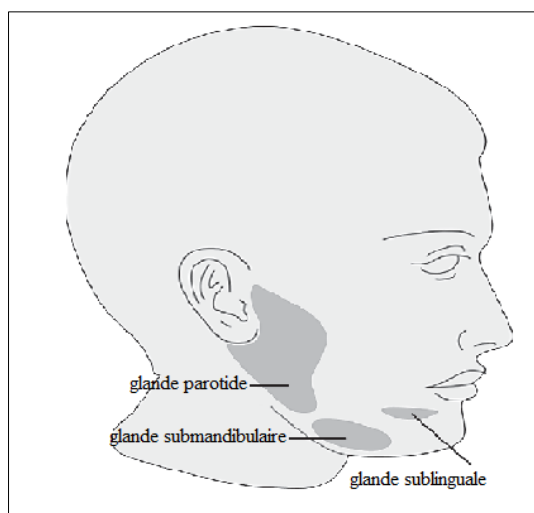


Figure 1 : Localisation des principales glandes salivaires chez l'homme
(**Miletich, 2010**).

1.1.1.1. Glande parotide

Les glandes parotides sont les plus grandes des trois principales glandes salivaires, elles sont situées de chaque côté du visage, en avant des oreilles, et sont constituées de deux lobes, un lobe superficiel et un lobe profond. Entre ces deux lobes, se trouve le nerf facial qui est important pour la fonction des muscles de l'expression faciale. Le canal de la glande parotide, également appelé canal de Stensen, traverse le muscle masséter et débouche dans la cavité buccale au niveau de la deuxième molaire supérieure. La glande parotide est alimentée par l'artère carotide externe et ses branches et drainée par la veine jugulaire externe (**Alhajj and Babos, 2022**).

1.1.1.2. Glande submandibulaire

La glande submandibulaire est la deuxième plus grande glande, pèse environ la moitié du poids de la parotide (**Ghannam and Singh, 2022**). Elle se trouve en dessous de la mandibule de la mâchoire et en position médiale, sous le plancher de la bouche. Elle contient, comme les glandes parotides, des lobes superficiels et profonds. Les canaux excréteurs de cette glande, également appelés canaux de Wharton, passent au-dessus du muscle mylohyoïdien et se terminent au niveau de la caroncule sublinguale, sous la langue. Les glandes submandibulaires sont alimentées en sang par des branches des artères faciales et linguales et drainées par les veines sous-mentales vers la veine faciale. Les structures voisines comprennent le nerf hypoglosse qui est important pour la fonction motrice de la langue, le nerf lingual qui est nécessaire pour la fonction sensorielle de la langue, le nerf mandibulaire marginal qui donne une fonction motrice aux muscles qui aident à sourire, et le muscle platysma qui soutient le mouvement de la lèvre inférieure. (**Alhajj and Babos, 2022**).

Les sécrétions submandibulaires représentent 70% de la salive produite par les principales glandes salivaires (**Miletich, 2010**).

1.1.1.3. Glande sublinguale

Les glandes sublinguales constituent la plus petite paire de glandes salivaires principales. En forme d'amande, elle est située au-dessus du muscle mylohyoïdien dans l'espace entre la mandibule et les muscles génioglosses, juste en dessous de la muqueuse buccale. Contrairement aux principales glandes salivaires, elle n'a pas de véritable capsule

aponévrotique. Elle s'écoule dans la cavité buccale par environ 10 canaux, appelés canaux de Rivinus (**Nadershah and Salama, 2012**).

Parfois, certains des canaux antérieurs peuvent se rassembler dans un plus grand canal commun, appelé canal de Bartholin, qui s'ouvre à son tour sur le canal de Wharton. La lymphe de la glande se draine dans les ganglions lymphatiques sous-mentaux et submandibulaires (**Silvers and Som, 1998**).

1.1.2. Glandes mineurs

Le tissu des glandes salivaires mineures est composé de 800 à 1000 petites glandes salivaires dispersées dans la sous-muqueuse de la cavité nasale, de la cavité buccale, du pharynx, du larynx, de la trachée, des poumons et de la cavité de l'oreille moyenne. Bien que le tissu des glandes salivaires mineures puisse se trouver n'importe où le long des voies aérodigestives, il est plus concentré le long de la muqueuse buccale, de la muqueuse labiale, de la muqueuse linguale, du palais mou/dur et du plancher de la bouche (figure 02) (**Kessler and Bhatt, 2018**).

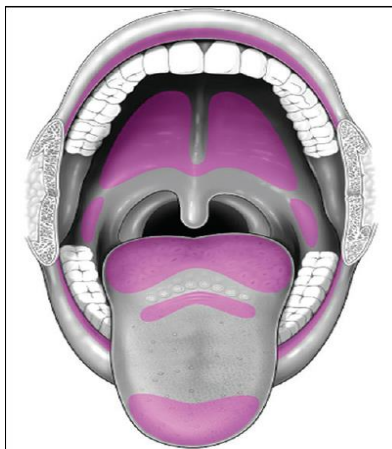


Figure 2 : Distribution des glandes salivaires mineures dans la cavité orale (en violet)

(**Kessler and Bhatt, 2018**).

1.2. Sécrétion de la salive

La sécrétion de salive est un processus actif et continu, principalement sous l'influence du système nerveux sympathique. Les cellules acineuses synthétisent de grandes quantités de protéines, qui sont combinées avec de l'eau importée, des sels et divers autres composants

dérivés du plasma pour produire la salive. Les cellules du conduit contribuent à la composition finale de la salive en important des composants du plasma et en produisant certaines protéines comme les facteurs de croissance, les immunoglobulines et les kallikréines (**Amado et al., 2019**).

Chez l'homme, les glandes salivaires principales, ainsi que des centaines de petites glandes salivaires sous-muqueuses fournissent un film de salive mélangée qui recouvre et protège la muqueuse buccale et les surfaces dentaires. La sécrétion salivaire est maintenue à un taux " par défaut ", créant un film mobile mais lent et renouvelant/remplaçant les protéines adsorbées sur les surfaces buccales molles et dures sous-jacentes.

Les propriétés et la composition de la salive mixte (entière) délivrée à la bouche au repos diffèrent de celles sécrétées pendant les repas, reflétant des contributions différentes de chacune des glandes salivaires. Les cellules acineuses de la glande parotide ne produisent pas de glycoprotéines mucines viscoélastiques et contribuent relativement plus à la salive de la bouche entière pendant la stimulation (Tableau 1), tandis que la contribution des cellules acineuses des autres glandes salivaires, dont la plupart sécrètent de la mucine, est relativement plus importante dans les sécrétions au repos. Cette différence de qualité et de composition de la salive au repos par rapport à l'alimentation permet à la salive de répondre aux exigences fonctionnelles différentes de l'exclusion et de la protection immunitaires et du traitement des aliments par rapport à la déglutition (**Boros et al., 1999**) (**Veerman et al., 1996**).

Le mouvement et la stimulation tactile de la muqueuse jouent un rôle plus important dans les glandes mineures labiales et palatines. Les glandes submandibulaires et sublinguales, mais pas la glande parotide, augmentent leur sécrétion en réponse à différentes odeurs associées à la nourriture.

La sensation de froid dans la bouche peut provoquer un flux de salive et peut augmenter la salivation en réponse à une stimulation gustative liquide. La température, les substances piquantes comme la capsaïcine et l'hydroxyl- α -sanshool et les agents de refroidissement comme le menthol activent les canaux TRP (potentiel de récepteur transitoire), les récepteurs gustatifs et les kératinocytes buccaux qui évoquent la sécrétion salivaire (**Proctor and Carpenter, 2014**).

Tableau 1: Contribution des différentes glandes salivaires au volume de la salive de la bouche entière.

(Proctor *and* Carpenter, 2014).

	Au repos, ml/min	Au repos,%	Stimulée, ml/min	stimulée,%
Salive entière	0.35	100	2.0	100
les glandes parotides	0.1	28	1.05	53
Glandes submandibulaires / sublinguales	0.24	68	0.92	46
Glandes mineurs	<0.05	4	<0.1	1

2. Salive

2.1. Définition

La salive est le liquide biologique sécrété par les glandes salivaires, à l'intérieur de la cavité buccale. La salive totale, appelée également fluide oral, est composée de tous les fluides sécrétés par les glandes salivaires principales et accessoires, du fluide gingival, du transsudat des muqueuses buccales, des bactéries sessiles non adhérentes, du mucus provenant des fosses nasales et du pharynx, des restes alimentaires, des cellules épithéliales desquamées de la muqueuse buccale, de cellules sanguines et des traces de divers médicaments et produits chimiques (Trigui, 2018).

La collecte de salive est pratique, non invasive, facile à accepter et offre des opportunités uniques de contourner la procédure invasive du sang. Par conséquent, elle peut être utilisée comme méthode de détection pour diagnostiquer des maladies à partir des biomarqueurs de la salive, ce qui a été largement utilisé dans la pratique clinique (Cui *et al.*, 2022).

2.2. Rôle de la salive

La salive remplit de multiples fonctions, qui sont importantes pour le maintien de la santé bucco-dentaire et générale. La salive lubrifie et nettoie les dents et la muqueuse buccale, maintient un pH neutre grâce à son pouvoir tampon, empêche la déminéralisation des dents, exerce des actions antimicrobiennes, aide à la formation du goût et du bolus, initie la digestion enzymatique de l'amidon et elle est impérative pour la mastication, la déglutition et l'articulation de la parole (Figure 03) (Pedersen *et al.*, 2018).

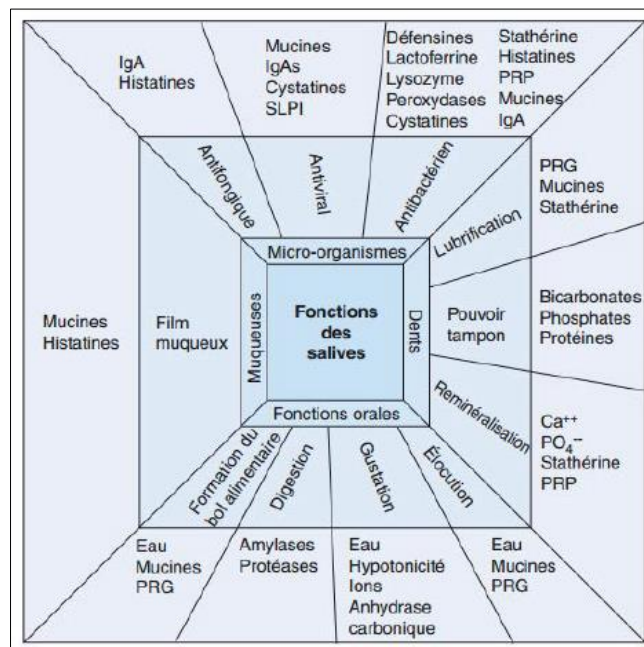


Figure 3 : Schéma des fonctions de la salive

(Trigui, 2018).

IgA : immunoglobulines A, IgAs : immunoglobulines A sécrétoires, PRP : Protéines riches en proline, PRG : PRP glycosylées, SLPI : secretory leukocyte protease inhibitor

2.2.1. La lubrification et la protection

Les meilleurs composants lubrifiants de la salive sont les mucines, avec les PRP (Protéines riche en proline), la stathérine et les histamines, elles rendent la salive visqueuse puisqu'elles sont peu solubles, très élastiques et fortement adhésives. La mastication et la déglutition sont donc facilitées par les effets lubrifiants des mucines, qui augmentent la résistance au cisaillement à ces moments (Tvariionaviciute *et al.*, 2020).

2.2.2. Action tampon et clairance

Dans la salive, HCO_3^- est le système tampon le plus important. Le HCO_3^- est généré par L'anhydrase carbonique intracellulaire qui catalyse la réaction réversible de l'eau et du CO_2 pour former du HCO_3^- et du H^+ . Lorsque le HCO_3^- diffuse dans la plaque, il agit comme un tampon en neutralisant les acides, régulant ainsi le pH salivaire. En outre, le HCO_3^- génère ammoniac pour former des amines, qui servent également de tampon en neutralisant les acides.

Après l'activité du HCO_3^- , le principal pouvoir tampon de la salive est attribué aux histamines. L'urée, autre tampon présent dans la salive, libère de l'ammoniac après avoir été métabolisée par l'activité uréase des bactéries de la plaque dentaire et augmente ainsi le pH de la plaque dentaire (Melvin *et al.*, 2005) (Tvarijonaviute *et al.*, 2020).

2.2.3. Maintien de l'intégrité des dents

Les sécrétions des glandes sous-mandibulaires/sublinguales humaines contiennent une mucine multimérique de haut poids moléculaire (MG1) qui s'adsorbe étroitement à la dent et contribue ainsi à la pellicule d'émail, qui protège la dent des défis acides. En outre, les statherines adhèrent étroitement à la surface de la dent. les PRP acides, se lient aux concentrations salivaires élevées de calcium et de Phosphatase pour maintenir la maturation et la reminéralisation de l'émail (Troxler *et al.*, 1997) (Tvarijonaviute *et al.*, 2020).

2.2.4. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de la salive peut être spécifique (par exemple les immunoglobulines) ou non spécifique (protéines, mucines, peptides et enzymes). Elle contribue à contrôler le microbiote oral. Les IgA agissent activement sur les surfaces des muqueuses, neutralisent les virus, servent d'anticorps contre les antigènes bactériens et agissent en agrégeant ou en agglomérant les bactéries, inhibant ainsi leur fixation aux tissus de l'hôte.

En outre, les cathélicidines agissent comme des peptides antimicrobiens des premières défenses de l'hôte contre les infections chez les mammifères.

D'autre part, les enzymes qui agissent sur l'activité antibactérienne non spécifique sont la lactoferrine, les lysozymes ou les peroxydases (Tvarijonaviute *et al.*, 2020).

2.2.5. Goût et digestion (faciliter la déglutition)

L'hypotonicité salivaire renforce la capacité de dégustation des aliments salés et des sources de nutriments. La salive a également le rôle précoce, bien que limité, dans la digestion totale en commençant la décomposition de l'amidon avec la AAs (Acide acétylsalicylique) (Tvarijonaviciute *et al.*, 2020).

L'amylase ne participe pas directement au processus initial de digestion de l'amidon dans la bouche, mais elle fournit une assistance dans le processus de post-mastication en dissolvant les résidus alimentaires collés sur les dents. D'autres enzymes dans la salive, comme la lipase linguale, initient également la digestion des graisses (Roblegg *et al.*, 2019).

Enfin, la formation du bolus est une autre fonction importante de la salive en raison de ses propriétés mouillantes et de sa capacité à pénétrer dans les aliments pour permettre aux particules alimentaires de se coller les unes aux autres une fois que les aliments ont été mâchés et décomposés physiquement (Tvarijonaviciute *et al.*, 2020).

2.3. Caractéristiques physico-chimiques de la salive

2.3.1. Température

La température orale, celle du milieu salivaire, présente d'importantes variations, suivant les périodes de la journée, la température varie entre 36,2 et 37,2 °C, avec une périodicité de 24 heures et une acrophase (le pic de la sinusoïde) l'après-midi vers 16h40 (Figure 4) (Egloff, 2009) (Trigui, 2018).

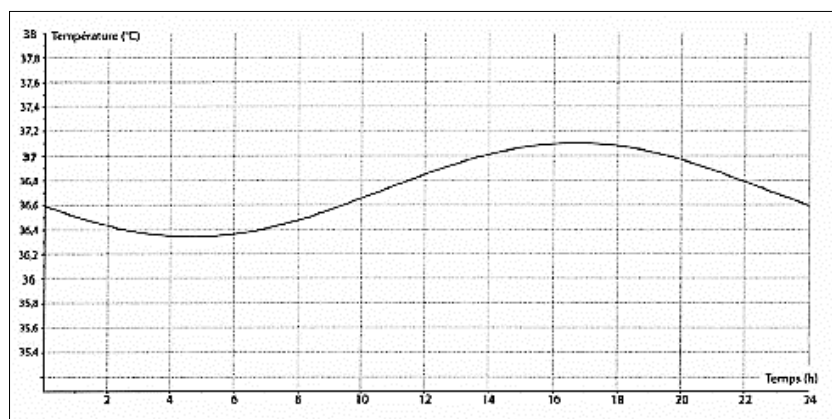


Figure 4 : Variations circadiennes de la température orale, d'après DAWES (Egloff, 2009)

2.3.2. pH

Le potentiel hydrogène (pH) salivaire se mesure chez un sujet éveillé à jeun, ayant peu parlé et n'ayant pas fumé. Selon la glande considérée, il peut varier de 5,8 pour la glande parotide à 6,5 pour la submandibulaire. Le pH global de la salive est compris entre 6,2 et 7,6, avec une valeur moyenne de 6,7 au repos. La salive contribue donc à maintenir la cavité orale à un pH presque neutre. Le maintien de cette neutralité repose sur deux mécanismes principaux : le premier consiste à éliminer les glucides fermentescibles qui pourraient servir de substrat aux bactéries ainsi que les acides qu'elles produisent, Le second, consiste à la capacité de tamponner et de neutraliser les acides ingérés notamment présents dans les boissons (Trigui, 2018).

2.3.3. Densité et pression osmotiques

Rapportée à la masse volumique de l'eau. La salive a une densité qui varie entre 1,004 et 1,012. La concentration salivaire en solutés (60 à 120 mOsm/kg) est inférieure à celle de l'organisme (plasma : 290 mOsm/kg). La salive est donc hypotonique (Trigui, 2018).

2.3.4. Viscosité

La viscosité est la résistance à l'écoulement uniforme et sans turbulence se produisant dans la masse d'un liquide. La viscosité de la salive résulte de la proportion de mucines produites par les cellules acineuses muqueuses par rapport aux cellules séreuses. Logiquement on obtient une viscosité de la salive différente suivant la glande dont elle est originaire, le tableau ci-dessous (Tableau 02) décrit la viscosité de chaque glande (Trigui, 2018).

Tableau 2 : Tableau récapitulatif de la viscosité salivaire

(Trigui, 2018).

Glande salivaire	La parotide	La submandibulaire	La sublinguale
Viscosité (centipoise)	1,5	3,4	13,4
Salive (consistance)	aqueuse	filante	très visqueuse

2.3.5. Potentiel d'oxydoréduction

Le potentiel d'oxydoréduction consiste à la capacité d'engendrer des réactions chimiques. Celui de la salive est intimement lié au pH et il est inversement proportionnel au pH. Lorsque le pouvoir oxydatif est élevé, le développement de germes aérobies est favorisé. A l'inverse, lorsque l'environnement buccal contient un grand nombre de germes anaérobies, le pouvoir oxydatif est diminué (Trigui, 2018).

2.4. Composition de la salive

La salive entière est constituée d'un mélange de fluides oraux, y compris les sécrétions qui provient de trois paires de glandes salivaires majeures et des glandes mineures . La salive produit 0,75-1,5 L par jour dans des conditions de sécrétion physiologique, cette dernière reste élevée pendant la journée, et diminue considérablement pendant la nuit. La salive contient 99% d'eau et 1% de divers éléments inorganiques (électrolytes) et organiques (protéines, glycoprotéines, composants plasmatiques ...). en plus des constituants d'origine non salivaire.

La composition de la salive peut également être affectée par des situations physiologiques (âge, sexe, poids corporel, rythme circadien, etc.), des troubles systémiques ou des maladies bucco-dentaires, le stress, l'exercice . Ainsi, l'utilisation de la salive comme substrat pour l'analyse diagnostique présente de nombreux avantages (Tvarijonaviciute *et al.*, 2020) (Cui *et al.*, 2022).

2.4.1. Composés inorganiques

Les principaux ions inorganiques de la salive sont : sodium (Na^+), potassium (K^+), chlorure (Cl^-) et bicarbonate (HCO_3^-). On trouve également en plus petites quantités : calcium (Ca^{2+}), magnésium (Mg^{2+}), Phosphatase (PO_4^{3-}), thiocyanate (SCN^-), fluorure (F^-), iodure (I⁻), nitrate (NO_3^-). La concentration de ces ions dans la salive est toujours inférieure à celle rencontrée dans le plasma pour les mêmes éléments, exception faite du potassium et des Phosphatases, cinq fois plus concentrés dans la salive que dans le plasma (Egloff, 2009).

2.4.1.1. Sodium, Potassium et chlorure

Les ions Na^+ , K^+ , Cl^- sont issus du plasma et ont principalement pour rôle d'établir l'osmolarité de la salive. L'osmolarité de la salive est environ la moitié de celle du plasma (Egloff, 2009).

2.4.1.2. Bicarbonate

Les ions bicarbonate sont les principaux acteurs du pouvoir tampon salivaire et donc de la prévention de la déminéralisation. Ils participent aussi à faciliter la solubilité des macromolécules et modifient les propriétés d'écoulement et de déformation des mucines (**Proctor and Carpenter, 2014**).

2.4.1.3. Thiocyanate

Le thiocyanate (SCN^-) est le produit de la réaction de détoxification du cyanure (sous forme de traces issues de la fumée de tabac, ou d'aliments) par une enzyme hépatique. L'ion thiocyanate participe à l'action antibactérienne des enzymes peroxydases (**Egloff, 2009**).

2.4.1.4. Calcium et Phosphatase

Une partie des ions Phosphatases et calcium est liée à des protéines ou forme des complexes. Ces ions calcium et Phosphatase jouent un rôle important dans les mécanismes pH-dépendants de dissolution et de reminéralisation de l'hydroxyapatite. Le calcium joue aussi un rôle dans l'agencement et l'état de réticulation des mucines (**Trigui, 2018**).

2.4.1.5. Fluorures

La concentration en fluor (F^-) de la salive est similaire à celle du plasma, et légèrement plus élevée en cas d'apports topiques fréquents (eau, dentifrice fluoré). Les ions fluorure jouent un rôle important dans la prévention des lésions carieuses (**Egloff, 2009**).

2.4.1.6. Magnésium

La concentration de magnésium (Mg^{2+}) dans la salive est très faible. A fort débit salivaire, sa concentration diminue. Cet ion ne semble pas jouer un rôle significatif dans les mécanismes de déminéralisation/reminéralisation, et peu d'études en font mention. (**Egloff, 2009**).

2.4.1.7. Nitrates et Ammonium

Les nitrates (NO_4^-), apportés en plus ou moins grandes quantités par l'alimentation (pollution) sont absorbés dans le tractus gastro-intestinal, puis atteignent les glandes salivaires via la circulation sanguine : sécrétés dans la cavité orale, ils sont partiellement réduits en nitrites (NO_2^-) par la flore buccale. Il s'instaure alors un véritable cycle gastro-oral, responsable de la longue demi-vie des nitrates et des nitrites. Ces substances pourraient être à

l'origine de la formation de composés nitrés cancérigènes, potentiellement responsables de tumeurs gastriques. Les ions ammonium (NH_4^+) pour leur part résultent de l'action des uréases bactériennes sur l'urée présente dans la salive (**Egloff, 2009**).

2.4.2. Composés organiques

A ce jour, plus de 3000 espèces de protéines différentes ont été identifiées dans la salive humaine à l'aide d'approches protéomiques. La majeure partie (90%) de toutes les protéines de la salive est constituée d'un groupe polymorphe de protéines synthétisées par les glandes salivaires (**Amado et al., 2019**).

2.4.2.1. Protéines salivaires

La salive comprend un grand nombre de composés organiques tels que : l'urée, l'ammoniac, l'acide urique, le glucose, le cholestérol, les acides gras, les mono-, di- et triglycérides, les lipides phosphorés et neutres, les glycolipides, les acides aminés, les hormones stéroïdes et les protéines qui aident dans la protection des tissus de la cavité buccale, y compris les mucines, les amylases, les agglutinines, les glycoprotéines, les lysozymes, les peroxydases, la lactoferrine et les IgA sécrétoires. Les facteurs non immunitaires comprennent la lactoferrine, le lysozyme, la myéloperoxydase, les histatines, les cystatines, les mucines G1 et G2 et les défensines (**Dodds et al., 2005**) (**De Smet and Contreras, 2005**).

De plus, ces macromolécules forment une couche muqueuse viscoélastique et une pellicule d'émail dentaire et agrègent et nettoient les bactéries et les débris de la cavité buccale (**Lawrence, 2002**).

a. Protéines salivaires riches en proline (PRP)

La salive contient une grande variété de protéines qui sont unique à ce fluide et qui ont des fonctions biologiques particulièrement importantes pour la santé bucco-dentaire. Beaucoup de ces protéines contiennent des niveaux élevés (35-40%) de proline, et sont donc appelées protéines riches en proline (PRP). Les PRP, qui représentent près de 70 % de la teneur totale en protéines de la salive parotidienne humaine, sont ensuite divisées en trois groupes en fonction de la charge et du degré de glycosylation : les PRP acides, basiques et les PRP basiques glycosylées (**Kauffman and Keller, 1979**).

- **PRP à caractère acide (30%)** : ce sont des protéines totales des salives parotidienne et submandibulaire. Il s'agit de protéines spécifiques aux glandes salivaires car on ne les retrouve dans aucune autre sécrétion. Elles retardent les mouvements d'ions entre la surface de l'émail et les fluides environnants. Ces protéines pourraient aussi contribuer au maintien d'une concentration constante en Ca^{2+} .

- **PRP à caractère basique (23%)** : Ces protéines sont issues de la glande parotide uniquement. Elles ont un rôle lubrifiant qui protège l'émail face aux forces de frottement lors de la mastication. Elles protègent contre les tannins alimentaires, en formant des complexes afin d'en réduire les effets nocifs.

- **PRP glycosylées (17%) (Egloff, 2009).**

b. Stathérines, Cystatines, histatines

- **Stathérines** : Permet à la salive de maintenir son état de sursaturation en ce qui concerne des sels de calcium et de Phosphatase (**Mandel, 1989**). La stathérine et les protéines riches en proline (PRP) permettent l'attachement aux dents et aux autres surfaces de la dent et d'autres surfaces orales pour une variété de micro-organismes oraux, Ainsi, ces composants protéiques contribuent grandement au maintien d'une dentition intacte par leur liaison et leur et l'inhibition de la précipitation spontanée du Phosphatase de calcium et de la croissance des cristaux, tout en offrant des possibilités d'hétérogénéité dans la colonisation microbienne grâce à leurs modèles de liaison bactérienne spécifiques (**Dodds et al., 2005**).

- **Cystatines** : ce sont des protéines présentes dans toutes les sécrétions muqueuses du corps. Elles jouent un rôle protecteur par leur action d'inhibiteur des protéinases (**Egloff, 2009**).

- **Histatines** : Les histatines comprennent une famille de petits peptides cationiques, peptides riches en histidine présents dans la salive humaine, ces peptides sont produits et sécrétés de manière constitutive par les glandes submandibulaires, sublinguales et parotides. Les histatines ont été décrits pour la première fois au début des années 1970 comme des peptides qui augmentent l'activité glycolytique des micro-organismes. Des rapports ultérieurs ont décrit leur puissantes propriétés bactéricides et, plus importantes, fongicides. Ces peptides font partie du système immunitaire inné et jouent un rôle important dans le maintien de la

santé bucco-dentaire en limitant les infections de la cavité buccale (**De Smet and Contreras, 2005**).

c. Glycoprotéines salivaires

- **Mucines** : principal composant organique de la salive submandibulaire/sublinguale, sont de grandes glycoprotéines constituées de deux groupes principaux, définis arbitrairement comme MG1 (103 kDa) et MG2 (130- 150 kDa). Leur haut degré de glycosylation et leur potentiel d'hydratation empêchent la dessiccation, leurs propriétés viscoélastiques assurent la lubrification. Ils peuvent également se lier aux toxines, agglutiner les bactéries, interagir avec les cellules hôtes, et sont des composants importants de la pellicule acquise et de la matrice de la plaque acquises (**Amerongen et al., 1987**) (**Baughan et al., 2000**). Il a également été suggéré que les mucines protègent l'œsophage en cas de reflux gastro-œsophagien.

Par conséquent, les réductions de la production de mucines pourrait avoir un certain nombre d'effets sur la santé buccale et systémique, ainsi que sur la qualité de vie (**Dodds et al., 2005**).

- **Immunoglobulines** : Les immunoglobulines salivaires appartiennent principalement (85%) à la sous-classe IgA et dans une moindre mesure à la sous-classe des IgG. Ensemble, elles représentent environ 5 à 15% des protéines salivaires totales.

Les IgA salivaires sont synthétisées par des lymphocytes B situés à proximité des épithéliums sécréteurs. Après sa sécrétion dans le liquide interstitiel, elle est absorbée par les cellules acineuses et canalaire de la glande salivaire et sont ensuite sécrétées dans la salive.

Les IgG présentes dans la salive proviennent principalement du liquide crévulaire qui s'écoule dans la cavité buccale. En raison de ses caractéristiques de liaison hautement spécifiques, un seul idiotype d'immunoglobuline se lie et agglutine un seul ou au mieux quelques espèces microbiennes à réaction croisée. Cependant, l'ensemble de la population d'immunoglobulines salivaires lie la majorité des microorganismes présents dans la salive, ce qui permet présentant ainsi un système de défense à large spectre. Contrairement aux immunoglobulines du sérum (**van Nieuw Amerongen et al., 2004**).

d. Enzymes salivaires

Elles sont diverses mais peu d'entre elles semblent jouer un rôle important au sein du milieu buccal, l'enzyme principale étant l' α -Amylase qui est la seule enzyme digestive importante de la salive. Elle représente de 40 à 50 % de l'ensemble des protéines de la salive mixte.

Il existe d'autres enzymes impliquée dans les mécanismes de défense telles que les peroxydases ; facteurs de défense non spécifique de la salive, les lysozymes, la lactoferrine ; liant le fer présent sous forme libre dans la salive, et les anhydrases carboniques qui permettent de maintenir constant le pH dans de nombreux tissus et liquides biologiques car elle catalyse la réaction d'hydratation du dioxyde de carbone (**Egloff, 2009**).

2.4.2.2. Urée

L'urée a été On la trouve dans la salive depuis 1951 ; c'est un produit du catabolisme des acides aminés et des protéines. Elle diffuse facilement à travers les membranes biologiques, avec une distribution homogène dans l'eau du corps. Le taux normal d'urée salivaire est de 12-70 mg/dL et la résolution au-dessus de ce niveau ne change pas de manière significative au cours de la journée. Le taux d'urée salivaire est indépendant du volume de la salive et la détection de l'urée salivaire peut être effectuée à tout moment de la journée.

Il y a une augmentation du taux d'urée dans la salive lorsqu'il augmente dans le sang en raison de la diffusion des déchets azotés dans la salive (**Pham, 2017**).

2.4.2.3. Lipides salivaires

La présence de lipides dans la salive est connue depuis les travaux de Doubleday (1909) (**Larsson et al., 1996**). La teneur totale en lipides de la salive entière était de 2 à 3 $\mu\text{g/ml}$, composé de cholestérol, d'acides gras et de TG. Les lipides salivaires sont principalement d'origine glandulaire, mais certains sont censés diffuser directement à partir du sérum. Cholestérol évalué dans la salive d'adultes en bonne santé; ils ont conclu que les niveaux de concentration salivaire reflètent la concentration sérique dans une certaine mesure (**Karjalainen et al., 1997**). Les lipides salivaires peuvent jouer un rôle de nucléation dans la minéralisation précoce de la plaque dentaire, c'est-à-dire dans la formation de tartre. Ainsi,

l'accessibilité de la bouche en fait un portail à travers lequel on peut potentiellement surveiller la santé systémique et bucco-dentaire (**Tabak, 2001**).

2.4.2.4. Sucres salivaires

L'étude du glucose salivaire pose problème, car il est impossible de distinguer le glucose réellement excrété par les glandes (et qui pourrait refléter la glycémie) du glucose libéré à partir des glycoprotéines, et du glucose de l'alimentation (salive mixte ou totale). En moyenne, la glycosalie (concentration en glucose de salive prélevée à la sortie des canaux) est de 5 à 10 mg/l (28 ou 55 $\mu\text{mol/l}$), soit cent fois inférieure à la concentration plasmatique. Une augmentation volontaire de la glycémie (par perfusion de glucose par exemple) entraînera une augmentation plus ou moins proportionnelle de la glycosalie ; mais une détermination isolée de la teneur en glucose salivaire ne peut donner d'indication intéressante sur la glycémie (**Egloff, 2009**).

2.5. Méthodes de collection de la salive

Les marqueurs biologiques sont utilisés pour mesurer objectivement les processus biologiques normaux, les processus pathogènes ou les réponses à une intervention thérapeutique. En outre, le dépistage des biomarqueurs peut être utilisé pour détecter la susceptibilité d'une personne à une maladie ou à un processus pathologique spécifique.

Les biomarqueurs sont traditionnellement analysés dans les fluides corporels tels que le sang, l'urine et le liquide céphalo-rachidien. Avec les progrès récents dans le domaine des dosages protéiques très sensibles, la salive entière et le fluide créviculaire gingival semblent être des fluides potentiels susceptibles de contenir des biomarqueurs importants ayant diverses applications en dentisterie et en médecine (**Papagerakis *et al.*, 2019**).

2.5.1. Types de salive selon la méthode de collection

En fonction de la méthodologie utilisée pour le prélèvement de la salive, différents types de salive peuvent être considérés :

- **Salive entière** : également appelée salive mixte ou fluide oral (salive non stimulée), la salive entière est le liquide qui se trouve dans la cavité buccale. Elle contient les sécrétions des glandes salivaires majeures et mineures ainsi que des composants non salivaires. Ces

composants non salivaires comprennent le liquide créviculaire gingival, les sécrétions nasales et bronchiques, le sérum et les dérivés sanguins des plaies, les revêtements épithéliaux desquamés, les composants alimentaires et les microorganismes qui résident dans la cavité buccale(Papagerakis *et al.*, 2019b).

- **Salive parotidienne** : liquide sécrété par les glandes parotides et provenant directement de l'orifice du canal parotidien.
- **Salive sous-mandibulaire** : fluide sécrété par les glandes sous-mandibulaires et obtenu directement de l'orifice du canal sous-mandibulaire.
- **Salive sublinguale** : fluide sécrété par les glandes sublinguales et obtenu directement de l'orifice du conduit sublingual.
- **Salive submandibulaire/sublinguale** : fluide sécrété par les glandes submandibulaires et sublinguales et obtenu directement du plancher buccal à proximité de l'ouverture du canal submandibulaire, lorsque la sécrétion des glandes parotides est empêchée.
- **Sécrétions des glandes salivaires mineures** : les fluides sécrétés par les glandes salivaires mineures et obtenus directement à partir des orifices des canaux. L'emplacement des glandes doit être indiqué (par exemple ; labiale, palatine).
- **Salive stimulée** : tous les types de salive ci-dessus peuvent être collectés avec des taux d'excrétion plus élevés après une stimulation gustative, masticatoire, pharmacologique ou mécanique (Amado *et al.*, 2019).

Le fluide le plus fréquemment utilisé pour le diagnostic salivaire est la salive entière (Mandel, 1990).

2.5.2. Méthodes de collection de la salive entière

Il existe différentes méthodes pour recueillir la salive entière. Quelle que soit la méthode utilisée, il faut demander aux sujets de se rincer soigneusement la bouche avec de l'eau désionisée avant l'essai de prélèvement et de vider la bouche de toute salive. Le sujet doit être assis confortablement, les yeux ouverts, la tête légèrement inclinée vers l'avant, et (pour un prélèvement de salive non stimulé) il doit se reposer pendant 5 minutes et minimiser les mouvements orofaciaux. Cinq minutes constituent une période de prélèvement adéquate. Voici les quatre méthodes les plus courantes de prélèvement de la salive entière :

- **Méthode d'égouttage** : on laisse la salive s'écouler de la lèvre inférieure dans un tube à essai gradué muni d'un entonnoir et le sujet expectorise dans le tube à essai à la fin de la période de collecte. Le sialomètre Proflow (*Proflow, Incorporated, Amityville, New York*) est un récipient de collecte gradué fixé à un entonnoir et est disponible dans le commerce.
- **Méthode du crachat** : on laisse la salive s'accumuler dans le fond de la bouche et le sujet la crache dans le tube à essai gradué toutes les 60 secondes.
- **Méthode d'aspiration** : la salive est aspirée en continu du fond de la bouche dans un tube à essai par un éjecteur de salive ou un aspirateur.
- **Méthode de l'écouvillon (absorbant)** : la salive est recueillie (absorbée) par un écouvillon, un rouleau de coton ou une éponge de gaze pré-pesé placé dans la bouche au niveau des orifices des principales glandes et est retiré pour être repesé à la fin de la période de collecte (**Navazesh, 1993**).

2.6. Biomarqueurs de la santé dans la salive

En 1901, Michaels a commencé à contribuer au diagnostic des maladies par la détection de la composition de la salive, Depuis les années 1980, de plus en plus de chercheurs en médecine ont réalisé que la salive était un miroir du corps humain. Comparée à d'autres examens traumatiques, la détection de la salive est simple, inoffensive, facile à accepter par les patients et peut être utilisée pour le diagnostic de nombreuses maladies (Figure 05).

Les maladies systémiques actuellement connues et étroitement liées aux biomarqueurs salivaires sont : la maladie d'Alzheimer, le cancer gastrique, le diabète, la pancréatite, la maladie du cortex surrénalien, le cancer du sein, etc. Les organes étroitement liés aux biomarqueurs salivaires comprennent le cerveau, la bouche, le foie, les poumons, le cœur, l'estomac, etc. Par conséquent, la modification de la composition de la salive peut refléter l'état de la maladie (**Cui et al., 2022**).

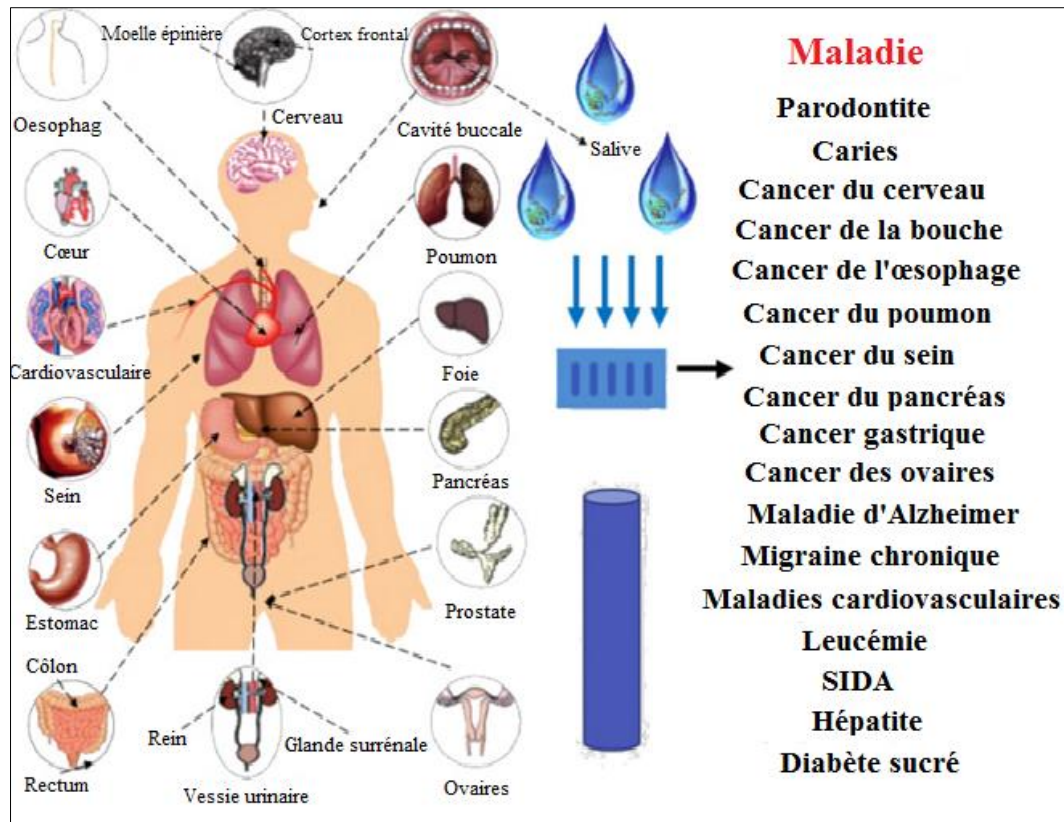


Figure 5 : L'utilisation clinique de la salive dans le diagnostic des maladies locales et systémiques (Cui *et al.*, 2022).

2.6.1. Maladies parodontales

La parodontite est la sixième maladie inflammatoire chronique la plus fréquente dans le monde. La forme la plus fréquente de la maladie est la parodontite induite par la plaque, caractérisée par une inflammation gingivale, la libération de différentes cytokines pro-inflammatoires et la destruction des tissus parodontaux et de l'os alvéolaire.

L'évaluation de biomarqueurs salivaires spécifiques de cette maladie complémentaires aux examens cliniques et radiologiques pourrait apporter des informations pronostiques et/ou de dépistage précoce de cette maladie.

L'analyse de biomarqueurs salivaires pourrait servir d'outil pour l'évaluation de l'état parodontal durant l'examen initial, la surveillance de la réponse au traitement et la prédiction de la progression de la maladie. Les biomarqueurs salivaires pour cette pathologie

comprennent les protéines provenant de l'hôte, les cellules hôtes, les hormones, les bactéries et leurs produits, les ions et les composés volatils (**Trigui, 2018**).

Une étude récente a évalué les niveaux d'adrénomédulline (AM) et d'oxyde nitrique (NO) dans la salive et le fluide crévulaire recueillis auprès de patients atteints de gingivite, de parodontite agressive et de parodontite chronique, et les ont comparé à ceux des témoins sains. Ces données indiquent une implication du NO et l'AM dans la maladie parodontale, ces molécules pourraient être utilisées comme marqueurs de diagnostic salivaire pour la parodontite (**Hussain et al., 2016**).

De plus, les niveaux salivaires du TLR-4 (Toll Like Receptor), de l'IL-18, de l'acide urique, de l'aspartate transaminase et de la procalcitonine dans les patients atteints de parodontite étaient plus élevés que chez les individus en bonne santé, montrant des corrélations positives avec les mesures cliniques, y compris la profondeur de sondage, le niveau d'attachement clinique et l'indice gingival. Par conséquent, ces paramètres pourraient être utiles dans le diagnostic et le pronostic des maladies parodontales. Récemment, un nouveau système estimant l'abondance des neutrophiles dans la salive (à travers MMP-8) a été développé pour détecter la présence de maladies parodontales (**Zhang et al., 2016**).

2.6.2. Maladies rénales

La corrélation entre le niveau sérique et salivaire de la créatinine a été étudiée chez les patients atteints d'insuffisance rénale chronique. Les résultats de ces études ont montré que la créatinine était plus élevée dans le sérum et la salive des malades. La salive peut être utilisée pour évaluer la créatinine des patients malades avec une sensibilité de 97,1% et une spécificité de 86% lorsque la créatinine dépasse une valeur seuil de 0,2mg/dL (**Pham, 2017**).

Les niveaux de créatinine salivaire peuvent être utilisés pour surveiller les fonctions rénales et pour déterminer l'efficacité de la dialyse chez les patients atteints d'une maladie rénale en phase terminale (**Zhang et al., 2016**).

2.6.3. Maladies cancéreuses

2.6.3.1. Cancer des ovaires

Le cancer de l'ovaire est le plus mortel de tous les cancers de l'appareil reproducteur féminin. Il est généralement détecté à un stade avancé et le taux de survie n'est que de 30 %.

Actuellement, les biomarqueurs salivaires les plus couramment utilisés pour le diagnostic du cancer de l'ovaire sont les protéines CA-125 et MUC16, mais le niveau de CA-125 dans le cancer de l'ovaire précoce est normal et ne peut être utilisé pour un diagnostic précoce (Kirwan *et al.*, 2015).

2.6.3.2. Cancer de la prostate

Le cancer de la prostate est une tumeur maligne provenant de l'appareil reproducteur masculin. Le marqueur diagnostique le plus utilisé en clinique est l'antigène spécifique de la prostate, mais cette méthode présente des problèmes tels qu'un coût de détection élevé, une faible sensibilité et spécificité, et des faux positifs. Certains patients ne sont diagnostiqués qu'à un stade avancé, ce qui ne favorise pas le traitement. La détection des MiR-141 et miR-21 dans la salive sont deux nouveaux biomarqueurs découverts pour la détection du cancer de la prostate. Le premier est significativement élevé chez les patients atteints d'un cancer de la prostate avancé, tandis que le second est surexprimé dans le cancer de la prostate précoce. Il a été prouvé que l'expression de miR-21 et miR-141 dans la salive peut être détectée par l'oxyde de nanogène. On s'attend à ce que ce soit une méthode non invasive ou peu invasive pour diagnostiquer le cancer précoce de la prostate (Hizir *et al.*, 2014).

2.6.3.3. Cancer du pancréas

Le cancer du pancréas est actuellement l'entité tumorale la plus meurtrière et le nombre de cas est en augmentation. Il sera bientôt la deuxième cause la plus fréquente de décès par cancer dans le monde occidental (Al-Shaheri *et al.*, 2021).

Le nombre de 31 types de bactéries dans la cavité buccale des patients atteints de cancer du pancréas a augmenté et le nombre de 25 types de bactéries a diminué. Parmi elles, *Neisseria longum* et *Streptococcus mitis* ont une sensibilité et une spécificité élevées dans le diagnostic du cancer du pancréas (Farrell *et al.*, 2012).

2.6.3.4. Cancer du poumon

Le cancer du poumon est la principale cause de décès par cancer chez les hommes et les femmes du monde entier. Étant donné que la plupart des symptômes constatés pour le cancer du poumon ne sont pas spécifiques, le diagnostic se fait principalement à la fin et à un stade avancé avec un mauvais taux de survie (Trigui, 2018).

Des études trouvées 16 protéines candidates qui peuvent distinguer les patients atteints de cancer du poumon des individus sains avec une sensibilité et une spécificité élevées (**Wei et al., 2014**). Cela indique que les biomarqueurs de la protéomique peuvent être établis pour la détection précoce et le pronostic du cancer du poumon. De même, il est rapporté que les trois biomarqueurs protéiques (haptoglobine, zinc- α -2-glycoprotéine et calprotectine) dans la salive ont obtenu une précision, une sensibilité et une spécificité de 90%, 88,5% et 92,3%, respectivement (**Xiao et al., 2012**).

2.6.3.5. Cancer du sein

Le cancer du sein est l'un des cancers les plus fréquents chez les femmes dans le monde ATP6AP1 est une ATPase exprimée dans les tissus normaux et est également associée à diverses tumeurs. Toutefois, parmi ces cancers, sa prévalence dans le cancer du sein est la plus élevée. Les auto-anticorps ATP6AP1 sont produits spontanément chez les patients et peuvent être détectés à un stade précoce (**Arif et al., 2015**). Des études ont montré la présence de huit biomarqueurs ARNm et un biomarqueur protéique dans la salive, qui peuvent être utilisés pour détecter le cancer du sein avec une sensibilité de 83 % et une spécificité de 97 %.

Biomarqueurs sanguins et santé

II. Biomarqueurs sanguins et santé

1. Le sang

1.1. Définition et fonction

Le sang est un tissu conjonctif liquide ayant une composition unique. Il est formé de plasma, une matrice liquide et d'éléments figurés (Erythrocytes, leucocytes et thrombocytes) (Martini *et al.*, 2015). Le sang assure trois grandes fonctions : le transport, la régulation et la protection.

- **Le transport :** Le sang apporte l'oxygène des poumons jusqu'aux cellules de l'organisme et ramène le dioxyde de carbone des cellules jusqu'aux poumons, où il est exhalé. Il achemine aussi les nutriments provenant du tube digestif jusqu'aux cellules. Il se charge également de la diffusion de la chaleur, de l'élimination des déchets provenant de divers organes, et du transport des hormones des glandes endocrines vers d'autres cellules.

- **La régulation :** Le sang maintient le pH de tous les liquides de l'organisme. Il contribue également à la régulation de la température corporelle par différents moyens. L'eau qu'il contient absorbe la chaleur et exerce un effet rafraîchissant ; de plus, en variant son débit à travers la peau, le sang peut rejeter l'excédent de chaleur accumulée dans l'organisme. Par ailleurs, sa pression osmotique modifie la teneur en eau des cellules.

- **La protection :** La coagulation protège le système cardiovasculaire contre les hémorragies accompagnant une blessure. De plus, les leucocytes combattent un grand nombre de maladies en effectuant la phagocytose et en produisant des anticorps. Le sang contient aussi d'autres protéines, les interférons et le complément, qui contribuent de diverses manières à la protection de l'organisme contre les maladies (Tortora *et al.*, 2009).

Le système cardiovasculaire d'un homme contient de 5 à 6 L de sang ; celui de la femme en contient de 4 à 5 L. Le volume sanguin des deux sexes diffère essentiellement en raison de la différence dans la taille moyenne du corps (Martini *et al.*, 2015). La viscosité apparente du sang dépend des forces de cisaillement existantes et est déterminée par l'hématocrite, la viscosité du plasma, l'agrégation et les propriétés mécaniques des érythrocytes (Baskurt, 2003).

Quand on parle du sang prélevé à des fins d'analyse ou de conservation, on utilise le terme sang total pour indiquer que sa composition n'a pas été modifiée. Les composants du sang total peuvent cependant être séparés ou fractionnés (**Martini et al., 2015**).

1.2. Composition

Le sang contient environ 45 % d'éléments figurés et 55 % de plasma sanguin. Normalement, plus de 99 % des éléments figurés sont des érythrocytes. Le pourcentage du volume sanguin total occupé par les érythrocytes est appelé hématocrite (Figure 06). Les leucocytes, qui sont pâles ou incolores, et les thrombocytes occupent moins de 1 % du volume sanguin total. Ils forment une couche très mince, appelée couche leucocytaire, entre les érythrocytes et le plasma (**Tortora et al., 2009**).

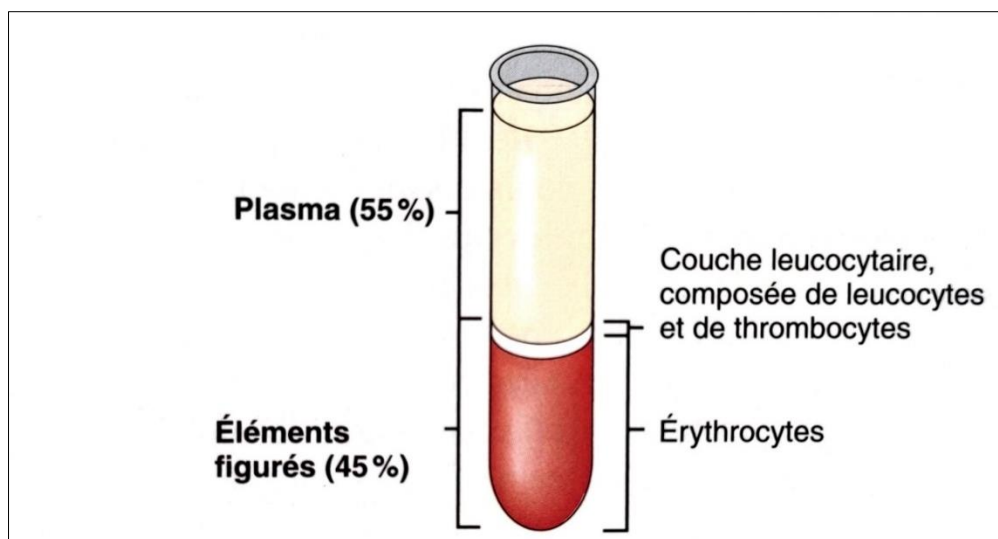


Figure 6 : Les composants du sang chez un adulte normal

(**Tortora et al., 2009**).

1.2.1. Erythrocytes (Globules rouges)

Les érythrocytes ou hématies ou globules rouges ne sont pas des cellules au sens strict, car il leur manque le noyau. Leur tâche principale est d'assurer le transport de l'O₂ et du CO₂ des poumons aux tissus périphériques ou vice-versa. Pour ce travail, un érythrocyte parcourt environ 400 km durant sa vie. La liaison aux gaz s'effectue grâce au constituant le plus important des érythrocytes, la protéine hémoglobine, qui confère aux érythrocytes et au sang total leur couleur rouge. Les érythrocytes ont aussi d'autres fonctions : ils participent la

régulation du pH, grâce au pouvoir tampon de l'hémoglobine, et portent à leur surface les antigènes des groupes sanguins qui caractérisent leur propriétaire.

Le développement des érythrocytes, appelé érythropoïèse, a lieu dans la moelle osseuse (Figure). Il présente quelques particularités qui tiennent à leur fonction de transport de l'oxygène. Les érythrocytes ne doivent pas consommer eux-mêmes l'oxygène, comme le font d'autres cellules dans leur chaîne respiratoire. Les érythrocytes sont donc dépourvus de mitochondries et d'autres organelles, ce qui a comme conséquence la libération de place pour l'hémoglobine et l'absence de consommation d'oxygène (**Horn et al., 2002**).

1.2.2. Leucocytes (Globules blancs)

Les globules blancs ou leucocytes, au nombre de 6 000 à 7 000 par millimètre cube de sang. Contrairement aux érythrocytes, les leucocytes ont un noyau dont la forme permet de décrire différentes variétés de leucocytes (Figure 07) : les lymphocytes et les monocytes ont un noyau arrondi non segmenté, les polynucléaires ont un noyau segmenté dont l'affinité pour les colorants varie, ce qui permet de décrire plusieurs variétés de polynucléaires (neutrophiles, éosinophiles, basophiles). La formule sanguine est la proportion de ces différentes variétés de leucocytes. La formule leucocytaire normale est la suivante : lymphocytes 25 %, monocytes 10 %, polynucléaires neutrophiles 60 à 65 %, polynucléaires éosinophiles 1 à 2 %, polynucléaires basophiles 0,5 à 1 %. Le rôle des globules blancs est essentiellement un rôle de défense de l'organisme contre toutes les agressions extérieures dont il peut être victime : lutte contre l'infection, phénomènes immunitaires (reconnaissance et destruction des éléments étrangers). Dans cette tâche, chaque variété de globule blanc est spécialisée (**Lacombe, 2015**).

1.2.3. Thrombocytes (Plaquette)

Les plaquettes sont des cytofragments de mégacaryocytes circulant sous forme de petits disques dans le sang périphérique (**Litwack, 2022**), leur durée de vie est d'environ 10 jours (**Al-Shura, 2020**). Elles contribuent à la formation des caillots sanguins et à l'entretien de la paroi des vaisseaux sanguins. Les plaquettes n'ont pas de noyau et ont un diamètre de 14 µm. Le sang normal contient 130 000 à 450 000 plaquettes par microlitre (**Litwack, 2022**).

Les plaquettes normales ont un diamètre de 1 à 3 µm. Elles sont irrégulières avec de fines granules rouges qui peuvent être dispersées ou centralisées. Un petit nombre de plaquettes plus

grandes, jusqu'à 5 µm de diamètre, peuvent être observées dans les films normaux. Des plaquettes de plus grande taille peuvent être observées dans le sang lorsque la production de plaquettes est augmentée (**Bain, 2017**). La production de plaquettes ne s'arrête pas à la libération des proplaquettes par les mégacaryocytes dans la moelle osseuse. Elles se transforment ensuite en plaquettes de taille normale dans la circulation. Les proplaquettes libérées par les mégacaryocytes sont fragmentées, réduites et augmentées en nombre par des transformations morphologiques réciproques répétées. en forme de disque, ou d'haltère (**Kurokawa et Ohkohchi, 2018**).

Les plaquettes possèdent deux types de granules, les granules a et les granules d.

- **Les granules a** : comprennent la sélectine P, le fibrinogène, la fibronectine, le facteur V, le facteur VIII, facteur IV des plaquettes, facteur de croissance dérivé des plaquettes, facteur de croissance tumorale-a.
- **Les granules d** : comprennent : l'adénosine diPhosphatase, adénosine triPhosphatase, le calcium épinéphrine, l'histamine, sérotonine

Leur rassemblement déclenche 13 facteurs de coagulation différents dans une séquence en cascade de la coagulation. Le but est de se rassembler, d'adhérer au site d'une lésion vasculaire pour arrêter toute nouvelle hémorragie, et de fixer la fibrine en surface pour la cascade de coagulation et l'agrégation afin de favoriser la croissance de nouveaux tissus.

En pathologie, les plaquettes peuvent provoquer le développement ou les complications d'événements cardiovasculaires. Un taux élevé de plaquettes provoque les facteurs de coagulation qui conduisent aux accidents vasculaires cérébraux et aux crises cardiaques. Un faible taux de plaquettes entraîne des troubles de la coagulation (**Al-Shura, 2020**).

1.2.4. Plasma

Le plasma est le principal composant sanguin acellulaire qui contient les protéines plasmatiques, y compris tous les facteurs de coagulation (**Castillo et al., 2018**). Il est incolore à jaune pâle, et se compose principalement de 91,5% d'eau, 7% de protéines et de 1,5 % de soluté qui ne sont pas des protéines (**Al-Shura, 2020**).

Les protéines du sang appelées protéines plasmatiques, sont synthétisées par le foie. Les plus abondantes d'entre elles :

- **Les albumines**, représentent environ 54% de l'ensemble des protéines plasmatiques. elles assurent le transport des acides gras et de plusieurs hormones stéroïdes. Elles contribuent également à maintenir la pression osmotique du sang, un facteur important dans l'échange des liquides à travers la paroi des capillaires.

- **Les globulines**, qui représentent 38% des protéines plasmatiques, comprennent les anticorps, qui défendent l'organisme lors de certaines réponses immunitaires.

- **Le fibrinogène** constitue environ 7% des protéines plasmatiques et joue un rôle clé dans la coagulation .Les autres solutés sont des électrolytes (ions) , des nutriments, des gaz, des substances régulatrices-telles que les enzymes et les hormones ,des vitamines et des déchets cellulaires avec des lipides, des sucres et des minéraux (**Tortora et al., 2016**). Le plasma contribue au transport et à la l'acheminement des érythrocytes et des déchets (**Al-Shura, 2020**).

L'osmolarité du plasma qu'il génère du fait de la présence cumulée de tous ces solutés, est de 310 milliosmoles par litre, à peu près équivalente à une solution de Na Cl à 9 g/L. Le pH plasmatique est de 7.4 ± 0.05 (**Bernard et al., 2006**).

Les principaux types de produits plasmatiques disponibles sont les suivants : FFP (Plasma frais congelé), le plasma congelé dans les 24 heures suivant la phlébotomie (PF24), le plasma congelé dans les 24 heures après la phlébotomie maintenu à température ambiante jusqu'à 24 heures après la phlébotomie (PF24RT24), plasma décongelé, plasma cryoprécipité réduit, et plasma liquide(**Castillo et al., 2018**).

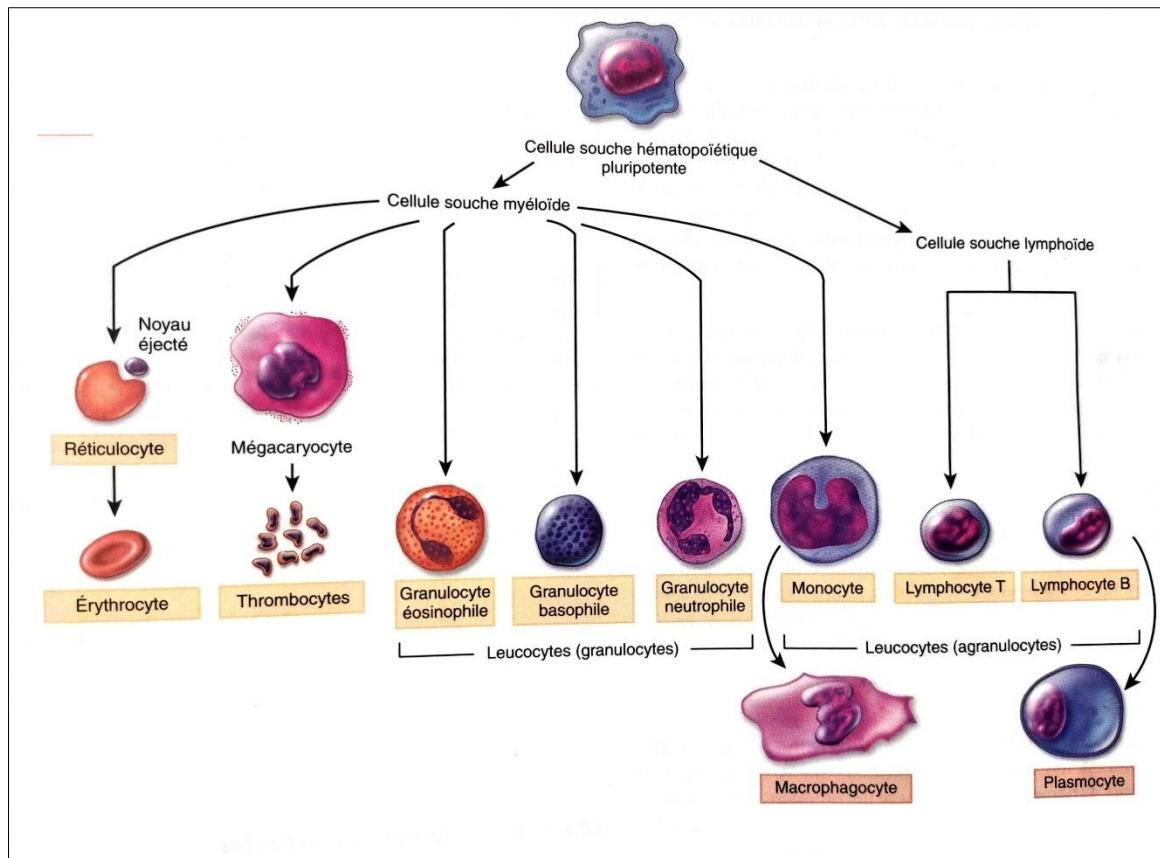


Figure 7 : Différenciation des cellules sanguines à partir des cellules souches hématopoïétiques pluripotentes

(Tortora *et al.*, 2009).

2. Biomarqueurs de la santé générale dans le sang

2.1. Maladies parodontales

La gingivite est un état inflammatoire des tissus mous qui entourent les dents (la gencive) et constitue une réponse immunitaire directe à la plaque microbienne dentaire qui s'accumule sur les dents (Kinane, 2001). La parodontite suit la gingivite et est également influencée par la réponse immunitaire et inflammatoire de l'individu déclenchée par la plaque microbienne ce qui provoque la libération de produits bactériens et de médiateurs inflammatoires dans la circulation sanguine. Chez les patients atteints de parodontite, des taux élevés de plusieurs des marqueurs inflammatoires peuvent être exprimés dans le sérum, reflétant l'effet de la maladie locale sur la santé générale (Zekeridou, 2019).

Le sérum ou le plasma fournit des informations sur le stimulus et/ou la réponse inflammatoire générés dans la circulation vis-à-vis des agents pathogènes parodontaux qui colonisent dans la zone sous-gingivale. Une augmentation des niveaux circulants de cytokines ont été signalés chez les parodontites chroniques par rapport aux sujets témoins cliniquement sains (**Buduneli and Kinane, 2011**). En effet, dans une étude cas-témoins, 61 patients atteints de parodontite chronique et 30 personnes témoins ont été sélectionnés. Le facteur de nécrose tumorale α (TNF- α), l'interféron- γ (IFN- γ) et l'interleukine10 (IL-10) étaient significativement plus élevés chez les patients atteints de parodontite que chez le groupe contrôle (Passoja et al., 2010). Les résultats sont confirmés aussi par une deuxième étude cas-témoins similaire, incluant des sujets atteints de parodontite agressive et chronique, l'interleukine-1 β (IL-1 β) était significativement plus élevée dans le sérum des sujets malades que chez les témoins (**Gümüş et al., 2014**).

Dans une étude épidémiologique, Wu et al ont trouvé que la parodontite était corrélée avec des niveaux de protéine C réactive (CRP) et de fibrogène plus élevés. De plus, un taux élevé d'anticorps IgG pour *Porphyromonas gingivalis* a été associé de façon significative à un taux sérique de CRP élevé (**Wu et al., 2000**).

Deux autres études ont permis de constater que les niveaux de métalloprotéinase 8 de la matrice orale (aMMP-8) et du facteur d'activation plaquettaire (FAP) étaient plus élevés chez les patients atteints de parodontite que chez les patients sains ou ceux atteints de gingivite (**Äyräväinen et al., 2018 ; Zheng et al., 2006**).

Un traitement parodontal cliniquement efficace peut réduire les niveaux de marqueurs sérologiques et ont donné des résultats non homogènes. Une étude d'intervention préliminaire a indiqué que le traitement non chirurgical standard (détartrage et surfaçage radiculaire (SRP)) pouvait modifier les taux d'IL-6 et de protéine C-réactive (**Ide et al., 2004**).

En conclusion, la plupart des biomarqueurs sélectionnés pouvaient faire la distinction entre individus sains et malades mais pas entre sites sains et malades chez le même individu (**Zekeridou, 2019**).

2.2. Maladies rénales

Les lésions rénales peuvent être causées par un large éventail d'agressions, notamment les infections, les toxines, l'ischémie, l'hypertension, les troubles génétiques ou métaboliques, les

maladies auto-immunes ou le rejet d'allogreffe. Les effets de ces agressions peuvent induire une lésion rénale aiguë. Déterminer la nature et la gravité de cette blessure le plus tôt possible est un objectif primordial pour une intervention thérapeutique et une prise en charge réussie du patient. Les marqueurs biologiques qui identifient les processus normaux ou pathogènes, ou les réponses au traitement, sont un outil précieux pour déterminer l'état d'un patient (**Eckardt et al., 2013**).

L'azote uréique sanguin et la clairance de la créatinine sont des biomarqueurs bien établis de la fonction rénale qui peuvent être mesurés facilement et à peu de frais. L'urée et la créatinine sont toutes deux des produits du métabolisme des protéines, qui sont presque entièrement éliminées par les reins. L'urée est mesurée en routine dans le sérum par un test de réaction enzyme/oxydation ; cependant, ses niveaux sont affectés par des influences non rénales telles que l'apport en protéines, la déshydratation, la fonction hépatique, les saignements gastro-intestinaux et l'utilisation de stéroïdes (**Waikar and Bonventre, 2006**). Les niveaux de créatinine dans le sérum et l'urine peuvent être mesurés par une variété de tests (réaction de vitesse de Jaffe, méthode de la créatininase, méthode de chromatographie liquide à haute performance (HPLC)). Cependant, la HPLC est la méthode la plus sensible pour évaluer les taux de créatinine et n'est pas affectée par les interférences chromogènes. La clairance de la créatinine est l'une des évaluations les plus courantes de la fonction rénale, mais elle manque de sensibilité lorsque l'insuffisance rénale est légère et peut être affectée par la sécrétion tubulaire de créatinine lorsque le taux de filtration glomérulaire diminue (**Curhan, 2005**).

La cystatine-C est récemment apparue comme un biomarqueur alternatif fiable de la fonction rénale. La cystatine-C est un inhibiteur de la protéase à cystéine qui est constamment produit par les cellules nucléées et libéré dans le sang, où il est normalement réabsorbé et catabolisé par les tubules rénaux sans réintégrer la circulation sanguine. Les taux sériques de cystatine-C peuvent actuellement être mesurés par immunonéphélogométrie ou dosage immuno-enzymatique (ELISA) et sont affectés par l'utilisation de stéroïdes ou un dysfonctionnement thyroïdien. La cystatine-C est particulièrement sensible pour détecter les modifications de la fonction rénale lorsque l'insuffisance rénale est légère, et est meilleure que la créatinine pour l'évaluation des lésions rénales aiguës en raison de sa demi-vie plus courte (**Herget-rosenthal et al., 2004**).

Certains autres biomarqueurs potentiels de la fonction rénale méritent également d'être notés. L'acide urique est normalement excrété par le rein, mais les niveaux circulants augmentent pendant l'insuffisance rénale en cas d'IRC. Des études ont montré des niveaux accrus d'acide urique sérique ont été détectés chez les patients atteints d'IRC par dosage colorimétrique et prédisent un risque accru d'insuffisance rénale terminale (**Feig, 2009**).

Les niveaux urinaires d'angiotensinogène détectés par ELISA ont été rapportés comme étant un indice spécifique du système rénine-angiotensine intra-rénal et corrélés avec la pression artérielle et le taux de filtration glomérulaire dans l'IRC. Par conséquent, l'angiotensinogène urinaire semble être un biomarqueur potentiel de la fonction rénale dans les maladies rénales dépendantes de l'hypertension (**Deekajorndech, 2007**).

L'excrétion fractionnée de magnésium (FE Mg) est considérée comme une mesure de la fonction tubulaire car les tubules réabsorbent normalement le magnésium filtré par les glomérules. Les niveaux de magnésium peuvent être mesurés dans le sérum et l'urine par spectroscopie d'absorption atomique. Les élévations du FE Mg indiquent la perte de flux capillaire péri-tubulaire résultant de lésions tubulo-interstitielles (**Tesch, 2010**).

2.3. Maladies cancéreuses

En 1948 Mandel et Métais ont identifié pour la première fois des acides nucléiques circulants dans le sang; toutefois, ce n'est qu'en 1994 que l'on a pris conscience de leur utilité potentielle en tant que biomarqueurs pour la détection et le suivi du cancer (**Tivey et al., 2022**). Au cours de la dernière décennie, une attention croissante a été accordée aux ADNc (tels que l'ADN, l'ARNm et les micro ARN (miARN)) qui sont présents à des concentrations élevées dans le sang des patients atteints de cancer (**Schwarzenbach et al., 2011**).

Les CTC sont des cellules issues de la tumeur primitive ou secondaire qui entrent dans la circulation sanguine par une intravasation active ou passive. Certaines de ces cellules pourront être à l'origine de métastases après avoir acquis de nombreux avantages leur permettant l'extravasation, la survie et la prolifération dans le tissu cible. Chez les patients atteints d'un cancer, l'ADNtc correspond à une très petite fraction de l'ADN libre circulant représentant parfois moins de 0.01 % et souvent moins de 1 % (**Dolfus et al., 2016**).

Dans le cas d'un individu atteint de cancer la concentration en ADN circulant pouvait être plus importante que pour un individu sain. Ainsi l'analyse de la qualité de l'ADN total circulant à travers sa concentration et le contrôle de son intégrité est susceptible d'être utilisé comme biomarqueur du cancer (**Malbec *et al.*, 2016**).

Il a été estimé que pour un patient dont la tumeur de 100 g, ce qui correspond à 3×10^{10} cellules tumorales, jusqu'à 3,3% de l'ADN tumoral peut passer dans le sang chaque jour. En moyenne, la taille de cet ADN varie entre de petits fragments de 70 à 200 paires de bases et des grands fragments d'environ 21 kilobases.

La détection de l'ADNc dans le plasma ou le sérum pourrait servir de "biopsie liquide", ce qui serait utile pour de nombreuses applications diagnostiques et permettrait d'éviter les biopsies de tissus tumoraux. L'utilisation d'une telle biopsie liquide offre la possibilité de prélever des échantillons de sang répétés, ce qui permet de suivre les changements de l'ADNc au cours de l'évolution naturelle de la maladie ou pendant le traitement du cancer (**Schwarzenbach *et al.*, 2011**).

Parmi la famille des cytokines, plusieurs interleukines peuvent être considérées comme essentielles au développement et à la progression du cancer. Comme pour les autres cytokines, le mécanisme d'action dans le cancer est spécifique pour chaque interleukine qui active un sous-ensemble de cellules avec le récepteur correspondant. Parmi les 33 cytokines évaluées, dix interleukines (IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IL-15, IL-16, IL-18, IL-21, IL-22, IL-33) étaient plus fréquemment associées à la surface ou à l'intérieur des vésicules extracellulaires (VE) (**Souza and Colli, 2022**).

2.3.1. Cancer du pancréas

Un autre intérêt de la biopsie liquide réside dans la détection précoce du cancer du pancréas. Pour 80% des patients, la détection du cancer du pancréas à un état avancé alors que l'intervention chirurgicale n'est plus possible explique le taux élevé de mortalité (près de 100% de décès 5 ans après le diagnostic). Par conséquent le traitement efficace du cancer du pancréas nécessite des méthodes de détection précoce qui permettent la prise en charge rapide du patient avant l'apparition de métastases. La stratégie consiste à cibler la surexpression de marqueurs spécifiques comme le miARN21 dans le cas du cancer du pancréas. Les miARNs sont une classe de courts nucléotides simple brins de type ARN non codant jouant un rôle de

régulation dans divers mécanismes cellulaires à travers la dégradation ou la répression des ARNs messagers (ARNm) (Malbec *et al.*, 2016).

2.3.2. Cancer du poumon

L'ADNc est un ADN qui circule librement dans le sang et qui est constitué de fragments d'une longueur moyenne de 140 à 170 paires de bases (pb). Il est présent dans la circulation sanguine de sujets sains à une concentration moyenne de 2 ng/ml (fourchette de 1 à 6 ng/ml) et chez les patients atteints d'un cancer du poumon, à une concentration moyenne de 8 ng/ml (fourchette de 1 à 41 ng/ml) (Schwarzenbach *et al.*, 2011).

2.3.3. Cancer des ovaires

Les méthodes de traitement traditionnelles du cancer de l'ovaire et les biomarqueurs tels que l'antigène cancéreux-125 comme outil de dépistage du cancer manquent de spécificité et ne peuvent pas offrir des schémas de thérapie combinatoire personnalisés. L'ADN tumoral circulant (ADNc) est un biomarqueur prometteur du cancer de l'ovaire et peut être détecté à l'aide d'une biopsie liquide non invasive (Yang *et al.*, 2021).

2.3.4. Cancer de la prostate

Le cancer de la prostate est le cancer masculin le plus fréquemment diagnostiqué dans le monde occidental. Il touche principalement les hommes âgés, l'âge médian au moment du diagnostic étant de 72 ans. Il a besoin de nouveaux biomarqueurs, d'autant plus que les avantages du test antigène prostatique spécifique PSA restent incertains. Les acides nucléiques peuvent désormais être détectés de manière précise et sensible dans le sang humain. Récemment, les recherches sur l'utilité des miARN, ADN et ARNm circulants sans cellules comme nouveaux biomarqueurs se sont développées de manière exponentielle (Sita-Lumsden *et al.*, 2013).

Partie Pratique

Rappelons que l'objectif de cette étude est de comparer les valeurs obtenues de quelques paramètres biochimiques entre la salive et le sang chez des individus sains sans antécédents médicaux.

1. Echantillonnage et collecte des données

1.1. Période et lieu d'étude

Cette étude a été effectuée durant la période allant du 15/03/2022 jusqu'au 11/05/2022 au niveau de laboratoire de Biochimie du Centre Hospitalo-Universitaire Ibn Rochd à Annaba.

1.2. Population d'étude

L'étude a été portée sur 31 personnes saines ; hommes et femmes âgés entre 18 et 37 ans à qui, une fiche de renseignement a été donnée. Cette fiche (annexe 1) est un questionnaire utilisé pour vérifier l'état de santé des sujets et de définir la population d'étude.

1.3. Recueil des données

Le recueil des données a été réalisé à l'aide d'une fiche de renseignement contenant les informations suivantes (pour plus de détails voir annexe 1) :

- Identification du patient (nom, prénom, âge, sexe et profession).
- Date, lieu et le numéro du prélèvement salivaire et sanguin.
- Renseignements cliniques : poids, taille et indice de masse corporelle (IMC).
- Antécédents personnels médicaux et chirurgicaux.
- Traitement médicamenteux en cours.
- Toxiques : tabac et alcool.
- Antécédents familiaux médicaux : insuffisance rénale (IR), insuffisance hépatique (IH) et insuffisance cardiaque (IC).

2. Matériel et méthodes

2.1. Collecte de la salive

La collecte salivaire a été effectuée au niveau d'un laboratoire d'analyses médicales à Guelma. L'heure optimale de collecte est à 8-10 heure du matin.

La méthode de collecte de la salive est la méthode de crachat qui consiste à laisser la salive s'accumuler dans le fond de la bouche puis le sujet la crache dans un tube sec (Figure 08). Cette collecte se fait après un jeûne d'une durée de 8 heures au minimum. Les sujets doivent s'abstenir d'avoir tout geste d'hygiène bucco-dentaire pendant au moins 1 heure avant la collecte de la salive.



Figure 8 : Prélèvement salivaire

2.2. Prélèvement sanguin

Le prélèvement sanguin a été effectué au niveau d'un laboratoire d'analyses médicales à Guelma. Le prélèvement est effectué, sur du sang veineux à partir de la veine superficielle du pli du coude (Figure 09) et ce, après un jeûne d'une durée de 8 heures au minimum. Le sang est prélevé ainsi est mis dans un tube hépariné.



Figure 9 : Prélèvement sanguin

2.3. Equipements et réactifs

- Une centrifugeuse Eppendorf® Centrifuge 5702/5702R/5702 RH (Figure10), réfrigérée, avec rotor A-4-38 a été utilisée pour la séparation de sérum du reste des constituants sanguins et la salive des débris salivaires.



Figure 10 : Centrifugeuse Eppendorf® Centrifuge 5702/5702R/5702 RH

- Un automate multiparamétrique COBAS INTEGRA® 400 Plus de biochimie (Figure) a été utilisé pour le dosage du lactate déshydrogénase (LDH), phosphatase alcaline (PAL), l'urée, et des protéines totales.
- Un analyseur d'électrolyte Diamond Smartlyte® Plus de biochimie (Figure 11) a été utilisé pour le dosage du sodium (Na^+) et du potassium (K^+).



Figure 11 : COBAS INTEGRA® 400 Plus / Analyseur Smartlyte® Plus

- Les réactifs de dosage utilisés sont récapitulé dans le tableau leurs fiches techniques respectifs sont présentés dans les annexes (2.3.4.5)

Tableau 3 : Réactifs de dosages utilisés (Détails dans les annexes 2.3.4.5.6)

Paramètres	Réactifs
Lactate déshydrogénase LDH	Test LDHI2, test ID 0-607.
Phosphatase alcaline PAL	ALP2S : ACN 158 ALP2L : ACN 683
Urée	Test UREL, test ID 0-003
Protéines totales	COBAS INTEGRA Total Protein Gen.2 (TP2) Test TP2, test ID 0-027.
Protéines salivaires	COBAS INTEGRA Total Protéine Urine/CSF Gen.3 (TPUC3).
Sodium Na⁺	Fluid pack (solutions Standard A, B, C et Solution de référence)
Potassium K⁺	Fluid pack (solutions Standard A, B, C et Solution de référence)

2.4. Méthodes de dosage de LDH, PAL, l'urée et protéines totales

La centrifugation du sang et de la salive à 3000 RPM pendant 10 min a été effectuée afin de séparer le sérum du reste des constituants sanguins et la salive des débris salivaires.

Après la centrifugation des échantillons (salive, sang), les surnageants sont déplacés dans des godets d'automate (modèle 900008, Polyéthylène haute densité PEHD) (Figure 12).

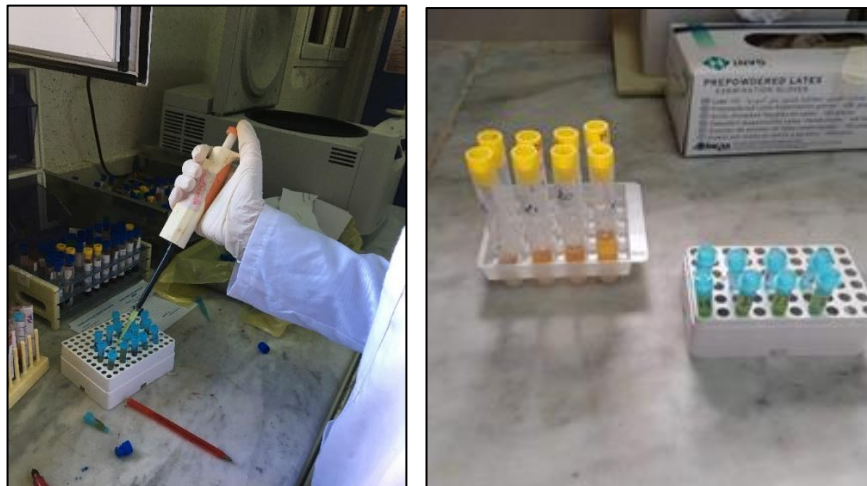


Figure 12 : Préparation des échantillons pour analyse par l'automate COBAS INTEGRA 400 Plus

Le système de commande de l'automate muni d'un ordinateur dans lequel est installé un logiciel d'exploitation de l'automate est ajusté en saisissant : nom/prénom, âge, sexe, code de l'analyte.

Les godets sont déposés dans un portoir qui est ensuite placé dans l'automate. Notons que le système Roche/Hitachi **Cobas C** calcule automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon et les résultats sont envoyés automatiquement à l'ordinateur (Figure 13).

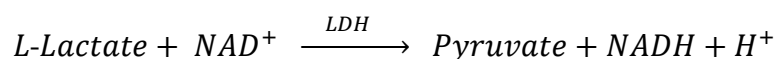


Figure 13 : Système de commande de l'automate COBAS INTEGRA 400 Plus

2.4.1. Dosage de Lactate déshydrogénase LDH

Principe

Le dosage de lactate déshydrogénase LDH du plasma sanguin et de la salive est réalisé par une méthode cinétique (Annexe 2). La lactate déshydrogénase catalyse la transformation du L-lactate en pyruvate. Le NAD⁺ est réduit en NADH.



La vitesse de formation du NADH est directement proportionnelle à l'activité catalytique de la LDH. Elle est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 340 nm (**Bais and Philcox, 1994**).

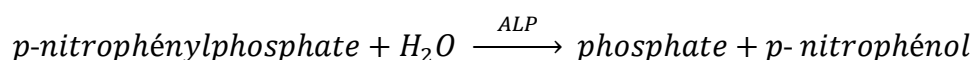
Expression des résultats

L'activité enzymatique de la LDH dans l'échantillon est exprimée en UI/L.

2.4.2. Dosage de la Phosphatase alcaline PAL

Principe

Le dosage de la Phosphatase alcaline PAL du plasma sanguin et de la salive est réalisé par une méthode cinétique colorimétrique selon une méthode standardisée (Annexe 3). En présence d'ions magnésium et zinc, le p-nitrophénylPhosphate est scindé par les phosphatases alcalines en Phosphate et p-nitrophénol.



La quantité de p-nitrophénol libéré est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline. Elle est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 480/450 nm. (**cobas C 311/C 501**) (**Tietz et al., 1983**).

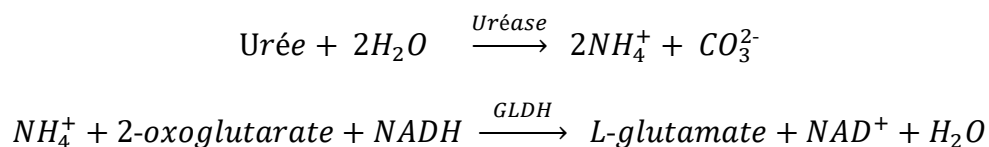
Expression des résultats

L'activité enzymatique de la PAL dans l'échantillon est exprimé en UI/L (Facteur de conversion : $U/L \times 0.0167 = \mu\text{kat/L}$).

2.4.3. Dosage de l'urée

Principe

Le dosage d'urée du plasma sanguin et d'urée salivaire est réalisé par un test cinétique utilisant l'uréase et la glutamate déshydrogénase (Annexe 4). Sous l'action de l'uréase, l'urée est hydrolysée en ammoniac et carbonate. Lors d'une seconde réaction, le 2-oxoglutarate réagit avec l'ammoniac en présence de glutamate déshydrogénase (GLDH) et de la coenzyme NADH pour former du L-glutamate. Dans cette réaction, deux moles de NADH sont oxydées en NAD^+ pour chaque mole d'urée hydrolysée. Selon la réaction suivante :



La vitesse de diminution du NADH est directement proportionnelle à la concentration en urée de l'échantillon. Elle est déterminée en mesurant l'absorbance à 340 nm (**Talke and Schubert, 1965**).

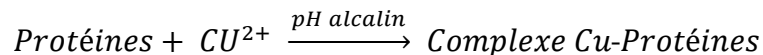
Expression des résultats

La concentration de l'urée dans l'échantillon est exprimée en mmol/L.

2.4.4. Dosage des protéines totales

Principe

Le dosage des protéines totales du plasma sanguin est réalisé par un test colorimétrique (Annexe 5). Les ions cuivriques réagissent en solution alcaline avec les liaisons peptidiques des protéines avec formation d'un complexe violet caractéristique. Le tartate de potassium et de sodium empêchent la précipitation de l'hydroxyde de cuivre et l'iodure de potassium empêche l'autoréduction du cuivre.



L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration en protéines. Elle est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 552 nm (Weichselbaum, 1946).

Expression des résultats

La concentration des protéines dans le plasma sanguin est exprimée en g/L.

2.4.5. Dosage des protéines salivaires

Principe

Le dosage des protéines salivaires est réalisé par une méthode turbidimétrique (Annexe 6). L'échantillon est pré-incubé dans une solution alcaline contenant de l'EDTA qui dénature les protéines et élimine l'interférence des ions magnésium. Après addition de chlorure de benzéthonium, il se produit une turbidité qui est mesurée à 512 nm (Tietz, 1987).

Expression des résultats

La concentration des protéines dans la salive est exprimée en g/L.

2.5. Méthode de dosage des ions Na⁺, K⁺

Le dosage de Sodium Na⁺ et Potassium K⁺ a été effectué par l'analyseur d'électrolyte le plus avancé SmartLyte PLUS après une centrifugation de la salive à 3000 RPM pendant 10 min afin de séparer la salive des débris salivaires.

L'échantillon (salive ou plasma) est aspiré du tube vers l'automate. Cette étape est suivie par l'essuie de la sonde après chaque recharge. Après un moment, les résultats s'affichent sur l'écran de l'appareil (Figure 14).



Figure 14 : Etapes du dosage des ions Na^+ et K^+ par l'analyseur Smartlyte[®] Plus

Principe

Le dosage de sodium Na^+ et potassium K^+ plasmatique et salivaire est réalisé par l'analyseur Smartlyte[®] Plus qui contient un Fluid Pack, ce dernier est composé de :

- **Standard A** – 350 mL - active ingrédients : Sodium 150.0 mmol/L, Potassium 5.0 mmol/L, Chlorure 115.0 mmol/L, Calcium 0.9 mmol/L, Lithium 0.3 mmol/L.
- **Standard B** – 85mL - active ingrédients : Sodium 100.0 mmol/L, Potassium 1.8 mmol/L, Chlorure 72.0 mmol/L, Calcium 1.5 mmol/L, Lithium 0.3 mmol/L.
- **Standard C** – 85mL – active ingrédients : Sodium 150.0 mmol/L, Potassium 5.0 mmol/L, Chlorure 115.0 mmol/L, Calcium 0.9 mmol/L, Lithium 1.4 mmol/L Solution de référence 100mL – active ingrédients : Potassium Chlorure 1.2 mol/L.

Inclus également d'autres ingrédients non-réactifs qui sont nécessaires pour une opération de système optimale.

Expression des résultats

Le taux des ions Na^+ et K^+ dans l'échantillon est exprimé en mmol/L

2.6. Analyse statistique

La saisie des données a été effectuée dans un tableur Microsoft Excel et l'analyse finale a été réalisée à l'aide de GraphPad Prism 5. Les résultats sont présentés sous forme de moyenne \pm écart-type ($m \pm SD$).

La vérification de la distribution normale des variables a été vérifiée par le test *Shapiro-Wilk*. La comparaison des moyennes de données quantitatives à distribution normale a été analysée par le *t-test de student* (test non paramétrique), tandis que la comparaison des variables à distribution non normale a été analysée à l'aide du test de *Mann-Whitney*.

La corrélation selon *Pearson* a été uniquement utilisée pour corréler l'acide urique salivaire (mmol/L) et l'acide urique sérique (mmol/L). Pour le reste des paramètres biochimiques (LDH, PAL, Protéines, Na⁺, K⁺) la corrélation a été effectuée selon *Spearman*.

Pour la signification statistique, les valeurs p inférieures à 0,05 ont été considérées comme statistiquement significatives.

Résultats et Interprétation

1. Comparaison et corrélation de l'activité de la LDH dans le sang et la salive

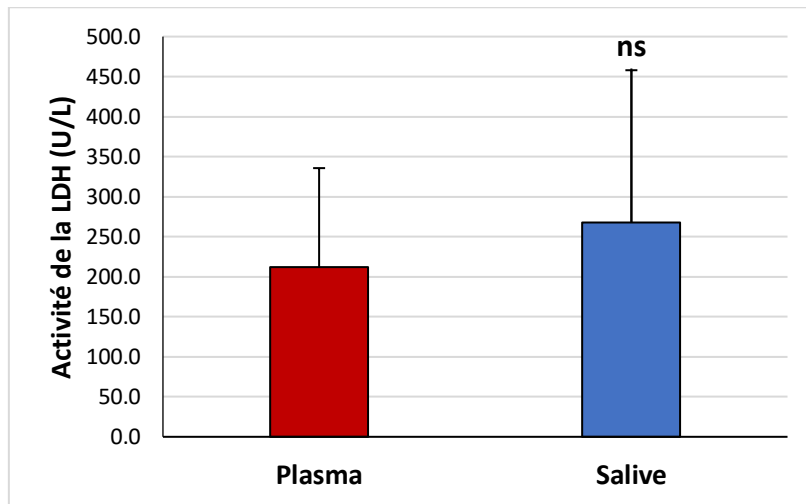


Figure 15 : Comparaison entre le taux de la LDH dans le sang et la salive.

Chaque barre représente la moyenne \pm SD du taux de la LDH dans le sang et la salive. La différence entre les résultats de comparaison des moyennes a été analysée par le test Mann-Whitney ($p < 0,05$).

D'après la représentation de la figure 15, il est clair que l'activité de la LDH estimée dans le sang à $212,0 \pm 123,7$ U/L, est inférieure à celle de la salive qui est estimée à $267,5 \pm 190,5$ U/L. cependant, cette différence est non significative ($P = 0,6843$).

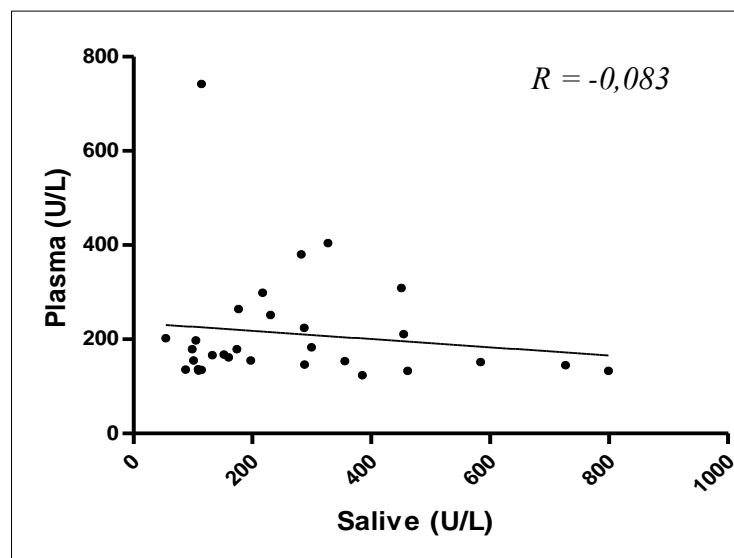


Figure 16 : Corrélations de taux de la LDH entre le plasma et la salive

(Corrélation de Spearman, * $p < 0,05$).

La figure16 montre le résultat de la corrélation entre l'activité de la LDH dans le plasma sanguin avec son activité dans la salive. On note une corrélation négative ($R = -0,083$) et statistiquement non significative ($p = 0,6646$).

2. Comparaison de l'activité de la (PAL) entre le plasma et la salive

D'après la représentation de la figure17, l'activité de la PAL estimée dans le sang à $83,68 \pm 41,41$ U/L, est supérieure à celle de la salive qui est égale à $26,10 \pm 37,26$ U/L. Cette différence est significative ($*P < 0,0001$).

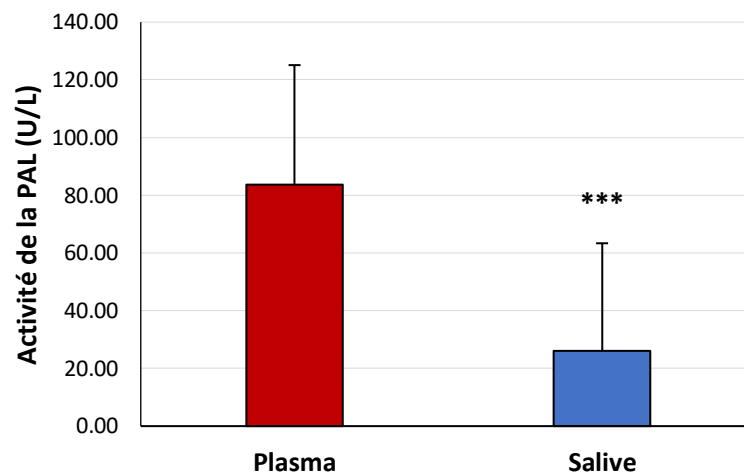


Figure 17 : Comparaison entre le taux de la (PAL) dans le plasma et la salive

Chaque barre représente la moyenne \pm SD du taux de l'activité de la PAL dans le sang et la salive. La différence entre les résultats de comparaison des moyennes a été analysée par le test Mann-Whitney ($*P < 0,05$).

Par ailleurs, la figure18 représente le résultat de la corrélation entre la concentration de la PAL dans le plasma sanguin avec sa concentration dans la salive. On observe que cette association est positive ($R = 0,1443$) et statistiquement non significative ($*p = 0,4387$).

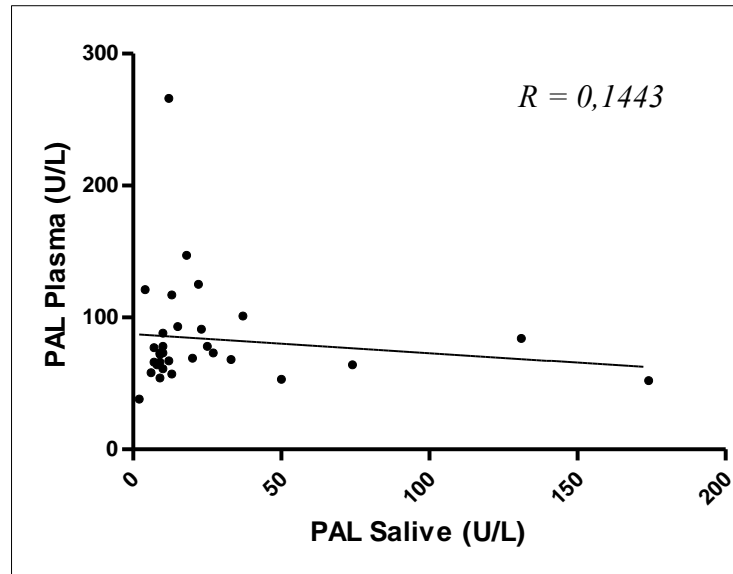


Figure 18 : Corrélation de l'activité de la (PAL) entre le plasma et la salive
(Corrélation de Spearman, * $p < 0,05$).

3. Comparaison et corrélation de l'activité de l'urée dans le sang et la salive

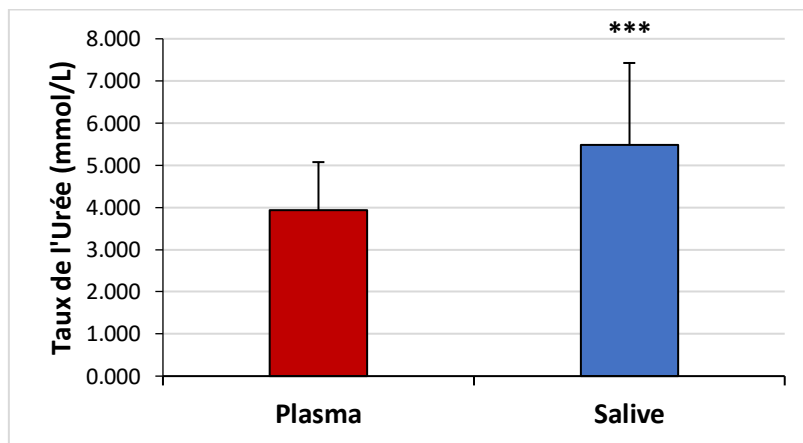


Figure 19 : Comparaison entre le taux d'urée dans le sang et la salive.

Chaque barre représente la moyenne \pm SD du taux d'urée dans le sang et la salive. La différence entre les résultats de comparaison des moyennes a été analysée par le t-test de student (* $p < 0,05$).

La figure19, montre que le taux de la moyenne d'urée dans le sang qui est égal à $3,936 \pm 1,14$ mmol/L, est inférieur à celui de la salive qui est estimé à $5,48 \pm 1,947$ mmol/L. Cette différence est hautement significative (* $p = 0,0003$).

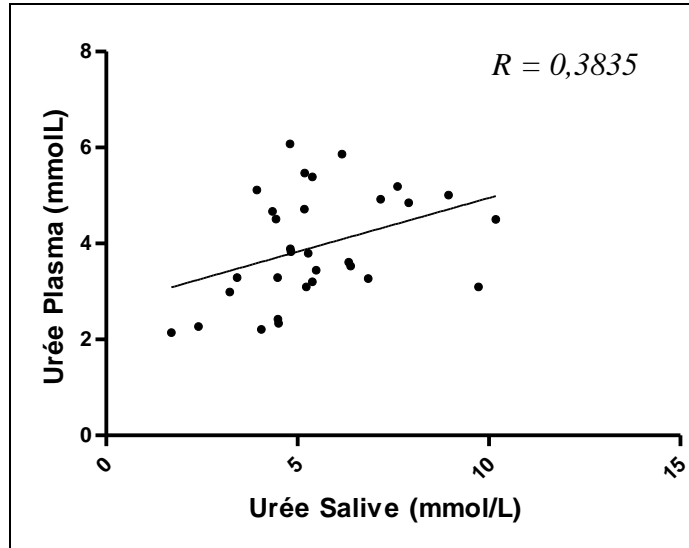


Figure 20 : Corrélation des taux de l'urée entre le plasma et la salive
(Corrélation de Pearson, * $p < 0,05$).

D'après la figure 20, le taux de l'urée plasmatique est positivement et significativement associé au taux de l'acide urique dans la salive ($R = 0,3835$, $p = 0,0332$).

4. Comparaison et corrélation de taux des protéines dans le sang et la salive

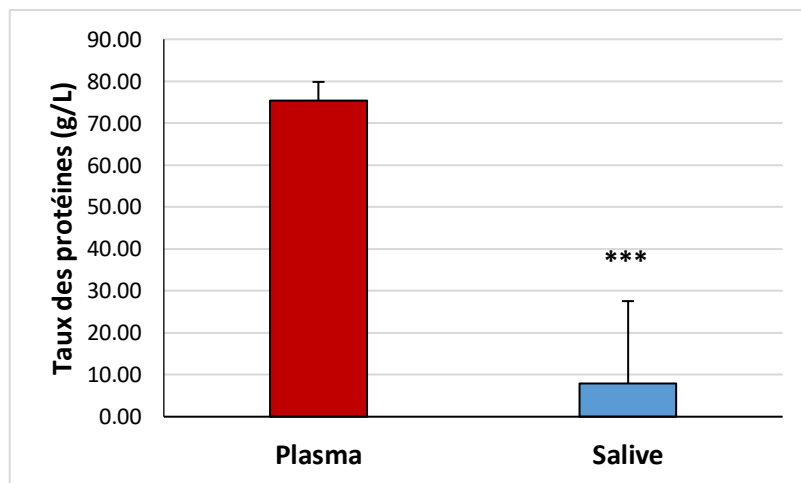


Figure 21 : Comparaison entre le taux des protéines dans le sang et la salive.

Chaque barre représente la moyenne \pm SD du taux des protéines dans le sang et la salive. La différence entre les résultats de comparaison des moyennes a été analysée par le test Mann-Whitney (* $p < 0,05$).

La représentation graphique de la figure21 illustre que la concentration des protéines totales dans le sang ($75,38 \pm 4,45$ g/L), est significativement supérieure ($*p < 0,0001$) à celle de la salive qui est estimé à $7,92 \pm 19,64$ g/L.

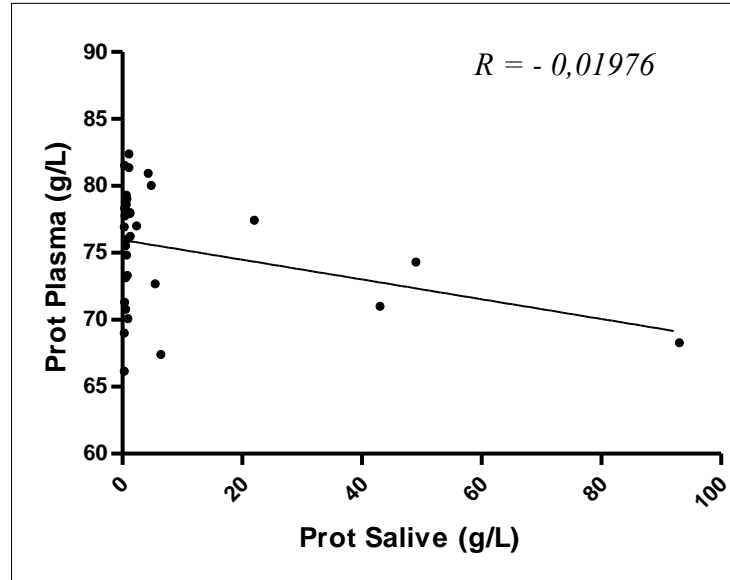


Figure 22 : Corrélation du biomarqueur Protéines totales dans le plasma sanguin et dans la salive
(Corrélation de Spearman, $* p < 0,05$).

Le résultat de la corrélation entre la concentration des protéines dans le plasma sanguin avec sa concentration dans la salive a été représenté par la figure22. On note que cette corrélation est négative ($R = - 0,01976$) et statistiquement non significative ($*p < 0,916$).

5. Comparaison et corrélation de Sodium (Na^+) / Potassium (K^+) dans le sang et la salive

Selon la figure23, le taux de Sodium (Na^+) dans le sang égal à $140,90 \pm 2,50$ mEq/L est supérieur à celui de la salive qui est apprécié à $12,32 \pm 5,80$ mEq/L, Par contre le taux de Potassium (K^+) apprécié dans le sang à $6,22 \pm 8,39$ mEq/L est inférieur à celui de la salive qui est apprécié à $22,47 \pm 6,62$ mEq/L. Les deux différences entre moyennes sont hautement significatives ($p^{***} < 0,0001$).

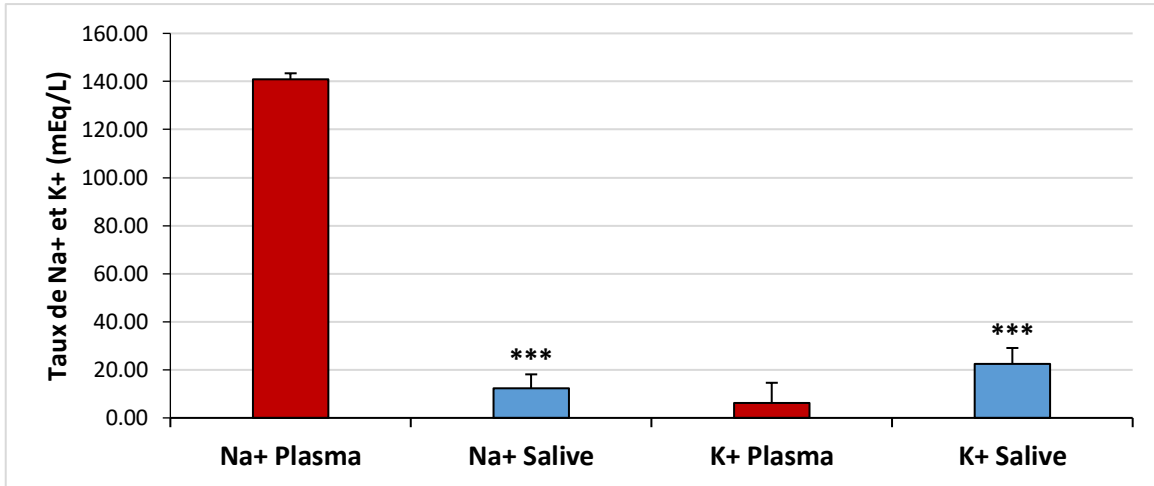


Figure 23 : Comparaison entre les taux de Sodium (Na^+) et Potassium (K^+) dans le sang et la salive.

Chaque barre représente la moyenne \pm SD du taux de Sodium (Na^+) / Potassium (K^+) dans le sang et la salive. La différence entre les résultats de comparaison des moyennes a été analysée par le test Mann-Whitney ($p < 0,05$).

D'une autre part, la figure 24 représentant les résultats des corrélations entre les concentrations de Sodium Na^+ et Potassium K^+ dans le plasma sanguin avec leurs concentrations dans la salive montre respectivement des associations négatives $R = -0,07787$ et $R = -0,01019$ et statistiquement non significatives avec $P = 0,6771$ et $P = 0,9566$.

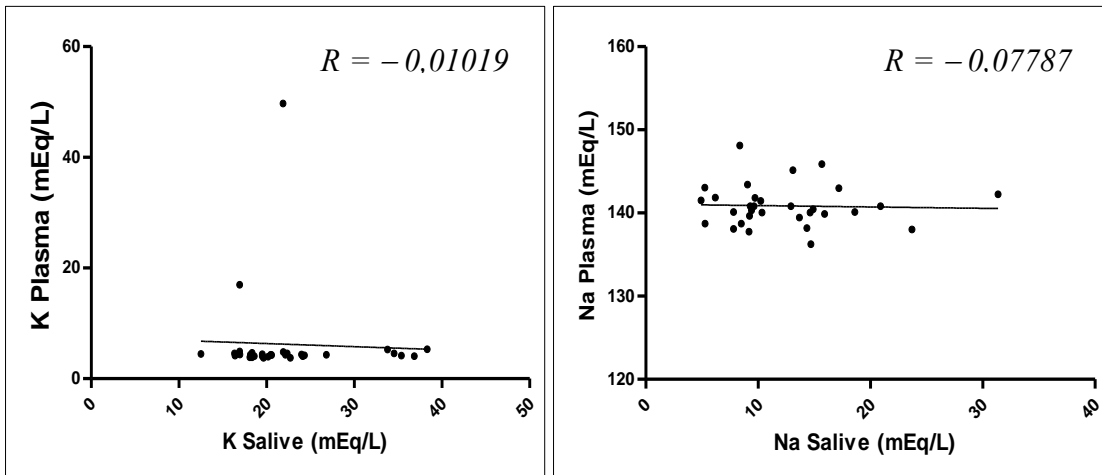


Figure 24 : Corrélations des taux du biomarqueur Na^+ et K^+ dans le plasma sanguin et dans la salive

(Corrélation de Spearman, * $p < 0,05$).

Discussion

Discussion

• La lactate déshydrogénase est une famille d'au moins six isoenzymes dépendantes. Elle appartient à la classe des oxydoréductases et est caractéristique de l'étape finale de la glycolyse anaérobie. La LDH catalyse la conversion réversible du pyruvate en lactate avec l'oxydation/réduction concomitante du NADH en NAD⁺ (**Forkasiewicz et al., 2020**). Lorsque le stress oxydatif ou un dommage oxydatif se produit dans le corps, la LDH peut être libérée, ce qui augmente son niveau dans le sérum et la salive. Le site fuite extracellulaire de cette enzyme indique un dommage ou la mort cellulaire (**Pandarathodiyil et al., 2021**). De nombreuses entités pathologiques telles que l'infarctus du myocarde, l'hépatite toxique, les anémies mégalo-blastiques, la pyélonéphrite, le lymphome de Hodgkin, le cancer de l'abdomen et du poumon, le tératome, les métastases hépatiques, la leucémie, la dystrophie musculaire progressive et l'embolie pulmonaire reflètent une augmentation du taux sérique de la LDH (**Panda et al., 2020**).

Notre étude a montré que la valeur moyenne de la LDH plasmatique ($212,0 \pm 123,7$ U/L) était inférieure à celle de la LDH salivaire ($267,5 \pm 190,5$ U/L), contrairement à l'étude de **Sivaramakrishnan** et ses collaborateurs (**2015**) dans laquelle, un total de soixante sujets a été divisé en deux groupes ; le groupe des trente patients ayant une fibrose sous-muqueuse orale (diagnostiqués cliniquement et histopathologiquement) est comparé à un groupe de de sujets témoins. Ils ont trouvé que les niveaux de l'activité enzymatique de la LDH sérique et salivaire étaient significativement plus élevés chez les patients atteints de fibrose sous-muqueuse orale (LDH sérique = 521.0 ± 27.30 U/L ; LDH salivaire = 606.83 ± 60.09 U/L) que chez les témoins sains (LDH sérique = 289.43 ± 26.86 U/L ; LDH salivaire = 80.73 ± 12.06 U/L).

Une autre étude de **Goyal (2020)**, a montré que le taux de LDH sérique était 194 U/L contre un taux de 115 U/L dans la salive, ce résultat n'est pas en accord avec le résultat de notre étude.

Par ailleurs, nos résultats ne sont pas en accord avec l'étude de **Shetty** et ses associés (**2012**) qui ont analysé les taux de LDH salivaires chez des patients atteints de leucoplasie orale comparés à ceux des témoins sains. Ils ont trouvé une différence significative entre eux et ont conclu que la LDH pourrait être un futur marqueur de transformation maligne.

L'étude de **Panda** et ses collaborateurs (2020) a montré une bonne corrélation entre les taux de la LDH sériques et salivaires chez les patients atteints de fibrose sous-muqueuse orale, tandis que chez les patients atteints de leucoplasie, une corrélation positive élevée a été observée. Ainsi, l'estimation du niveau de LDH salivaire peut être la meilleure alternative non invasive à l'analyse de la LDH sérique.

- La phosphatase alcaline appartient au groupe des enzymes hydrolases qui sont des biocatalyseurs synthétisés dans les cellules vivantes. Elle fonctionne en catalysant l'hydrolyse des monoesters de l'acide phosphorique et également la réaction de transphosphorylation en présence de grandes concentrations d'accepteurs de Phosphate. Les niveaux normaux de la PAL dans la salive se situent entre 5,50 et 12,58 U/L. La source de cette enzyme dans la cavité buccale comprend les neutrophiles, les bactéries et les cellules épithéliales buccales (**Menaka et al., 2019**). Les taux sériques de la PAL sont élevés chez les patients atteints de tumeurs primaires et métastatiques du foie et des os, telles que les métastases hépatiques du cancer colorectal et les atteintes osseuses et hépatiques (**Acharya et al., 2017**).

Dans notre étude, il y avait une corrélation linéaire positive entre les taux de la PAL plasmatique et salivaire avec un coefficient de *Pearson* $R=0,1443$. On a trouvé que le taux de la PAL dans le plasma sanguin $83,68 \pm 41,41$ U/L était significativement supérieur à celui de la salive qui est égale à $26,10 \pm 37,26$ U/L.

Dans une étude de **Goyal (2020)**, l'activité de la PAL a été déterminée chez 500 sujets divisés en cinq groupes ; groupe de contrôle sains, groupe d'individus fumeurs, groupe de patients présentant des lésions buccales bénignes, groupe de patients fumeurs et présentant des lésions précancéreuses apparentes (leucoplasie, érythroplasie) et le groupe de patients présentant un cancer buccal franc. Chez tous les groupes d'étude, l'activité de la PAL sérique est largement supérieure à celle de la salive. Dans le groupe contrôle, la valeur de la PAL sérique est de 120 U/L contre une valeur de 5 U/L dans la salive. Ces résultats concordent avec les résultats de notre étude.

- Le sang ou les composants du sérum peuvent passer dans la salive par diffusion passive, transport actif ou ultrafiltration des liquides extracellulaires induite par la pression hydrostatique à travers les jonctions serrées entre les cellules acineuses. Dans des circonstances normales, la dégradation métabolique de produits tels que l'urée, est excrétée par

les reins dans l'urine. En cas de maladie rénale, ce composé s'accumule dans la circulation systémique et passent dans la salive, soit directement, soit en étant excrété par les glandes salivaires. Chez les patients atteints d'IRC (Insuffisance rénale chronique), la forte augmentation de taux de l'urée dans le sérum conduit à la disparité du gradient entre le sérum et la salive, ce qui augmente la capacité de diffusion du sérum vers la salive (**Pham, 2017**).

On a trouvé que le taux de l'urée plasmatique $3,936 \pm 1,14$ mmol/L était inférieur au salivaire $5,480 \pm 1,947$ mmol/L, ces résultats sont cohérents avec les résultats de **Yajamanam** et ses collaborateurs (**2016**), Dans leur étude ; soixante patients atteints d'insuffisance rénale et soixante témoins sains ont été appariés selon l'âge et le sexe ont été étudiés. L'urée et d'autres paramètres biochimiques ont été mesurés dans le sérum et la salive. Ils ont trouvé que la moyenne de l'urée sérique ($3,65 \pm 0,66$ mmol/L) est inférieure à celle de la salive ($4,48 \pm 1,33$ mmol/L).

Yajamanam et ses associés (**2016**), ont trouvés que les niveaux d'urée salivaire étaient inférieurs au sérum dans le groupe de patients (IRC) ($P = 0,001$) mais plus élevés dans le groupe témoin, Cependant, cette constatation peut ne pas avoir de pertinence clinique car les valeurs sont proches ($13,61 \pm 0,50$ mmol/L dans le sérum et $11,62 \pm 0,50$ mmol/L dans la salive) et dans la plage normale attendue.

Dans notre étude, il y avait une corrélation linéaire positive entre les taux de l'urée plasmatique et salivaire avec un coefficient de corrélation ($R = 0,3835^*$), ce résultat était en accord avec l'étude de **Pham (2017)**, dans laquelle des échantillons de sang et de salive ont été prélevés chez 112 patients atteints d'IRC et 108 sujets témoins pour une analyse quantitative de l'urée et de la créatinine. Une corrélation linéaire positive a été trouvée entre l'urée sérique et salivaire ($R = 0,73$; $p < 0,001$). Bien que les résultats soient différents, ce résultat est cohérent avec des études antérieures telles que la recherche de **Lasisi et al (2016)**, et **Yajamanam et al (2016)**. Dans la même étude, **Pham** a montré que les concentrations salivaires d'urée sont significativement plus élevées chez les patients atteints d'IRC ($23,60$ mmol/L) que chez les sujets témoins ($13,89$ mmol/L ; $P < 0.001$), et augmentaient en fonction des stades de gravité de la maladie.

En faisant une autre comparaison avec l'étude de **Lasisi** et ses collaborateurs (**2016**), une étude cas-témoins a été réalisée, impliquant 50 patients atteints d'IRC au stade avancé et 49

individus sains comme témoins. Ils ont trouvé que les concentrations de l'urée plasmatique et salivaire sont proches, 24,50 mg/dL et 20,50 mg/dL respectivement. Bien que les résultats soient différents par rapport aux nôtres, ils ont montré qu'il y avait une corrélation positive entre l'urée sanguin et salivaire

Les résultats de notre étude et des études précédentes concernant la corrélation positive entre les concentrations de l'urée sanguin et salivaire, suggèrent que l'analyse de l'urée salivaire chez les patients qui ont une IRC reflète leurs niveaux dans le sang, et que la concentration salivaire de l'urée pourrait être utile pour le dépistage, le diagnostic, la surveillance d'IRC.

- Les protéines sont les précurseurs de nombreux composés biologiques importants, essentiels au fonctionnement normal de l'être humain. Nombre de ces composés peuvent être utilisés comme marqueurs pour l'identification d'états pathologiques spécifiques. Ces composés peuvent non seulement être impliqués dans la pathogenèse, mais aussi être utilisés comme outil de prédiction de nombreuses maladies. L'hypoprotéïnémie peut entraîner un œdème, parfois une ascite, et des épanchements pleuraux ou cardiaques. L'entéropathie avec perte de protéines se caractérise par une perte de protéines dans le tractus gastro-intestinal et se développe comme une complication rare de diverses maladies, le plus souvent gastro-intestinales ou cardiaques (Kościelniak *et al.*, 2012 ; Braamskamp *et al.*, 2010).

Les résultats de notre étude ont révélé, qu'il y avait une corrélation négative entre la concentration des protéines totales dans le plasma sanguin et dans la salive avec un coefficient de corrélation de *Spearman* ($R = -0,01976$). Cette association est inférieure au résultat de **Mirzaii-Dizgah** et ses collaborateurs (2020) ($R = 0,078$). Les niveaux sériques des protéines totales n'étaient pas significativement corrélés avec les niveaux salivaires non stimulés.

Nos résultats ont montré également que la concentration des protéines totales plasmatique ($75,38 \pm 4,45$ g/L) était supérieure à sa concentration salivaire ($7,92 \pm 19,64$ g/L). Ces résultats trouvés s'opposent aux résultats de l'étude iranienne de MirZaii, qui a été menée sur 30 femmes en bonne santé comme cas-témoins et 30 femmes atteintes de sclérose en plaques (SEP) comme groupe de cas hospitalisées. Le taux des protéines totales a été dosé dans le plasma sanguin et la salive entière stimulée et non stimulée.

Mirzaii-Dizgah et ses associés (2020), ont trouvé que la concentration sérique moyenne des protéines totales chez les patientes était plus faible que celle du groupe témoins. Cependant, il n'y avait pas une différence significative dans les concentrations salivaires non stimulées 50.1 ± 3.0 ng/L contre 496 ± 89 ng/L dans le sérum. Le taux sérique des protéines totales est plus faible dans la SEP et il peut être considéré comme un biomarqueur potentiel dans la sclérose en plaques. Cependant, il semble que les protéines totales dans la salive ne soit pas un biomarqueur approprié pour la détection de la SEP.

Al-Muhtaseb (2014) a réalisé une étude pour évaluer la variation de la teneur en protéines totales entre le sérum et la salive 40 patientes atteintes d'un cancer du sein et chez 40 femmes en bonne santé, avec une fourchette d'âge de 50-70 ans. Cette étude a montré que les protéines sériques totales étaient plus élevées ($6,14 \pm 1,84$ g/dl) chez les patientes atteintes d'un cancer du sein, alors que les niveaux dans la salive étaient plus faibles ($0,25 \pm 0,09$ g/dl) par rapport au groupe de femmes en bonne santé. Ces résultats ne sont pas en accord avec les nôtres.

- Le sodium et le potassium jouent des rôles clés dans le développement et le maintien de fonctions cellulaires essentielles au cours de plus de deux millions d'années d'évolution humaine. La Na^+/K^+ adénosine triphosphatase (pompe de sodium) présente dans toutes les cellules humaines génère un gradient de potassium à travers la membrane cellulaire, qui détermine le potentiel membranaire de repos. En général, les variations de la concentration plasmatique de potassium sont inversement liées aux variations de la tension négative à travers les membranes cellulaires, ce qui influe sur de nombreuses fonctions cruciales de l'organisme, en particulier sur les tissus excitables comme les nerfs et les muscles (**Castro and Raij, 2013**).

Les ions sodium sont les principaux cations du liquide extracellulaire, tandis que les ions potassium sont les principaux cations du liquide intracellulaire (**Sigel et al., 2013**).

L'étude de **Bagalad** et ses associés (2017) était de déterminer l'efficacité de la salive comme un moyen de diagnostique chez les patients souffrant d'insuffisance rénale chronique.

Notre étude a montré que la valeur moyenne de Na^+ plasmatique ($140,90 \pm 2,50$ mEq/L) est supérieure à celle de la salive ($12,32 \pm 5,80$ mEq/L) et que le taux de K^+ dans le sang estimé à $6,22 \pm 8,39$ mEq/L est inférieur à celui de la salive estimé à $22,47 \pm 6,62$ mEq/L. Nos résultats concordent avec les résultats de l'étude de Bagalad et ses collaborateurs ayant comme

objectif de comparer plusieurs paramètres biochimiques, y compris le sodium le potassium, chez 41 patients souffrant d'insuffisance rénale récemment diagnostiquée et subissant une dialyse pour la première fois, contre 41 individus sains considérés comme témoins. Ils ont montré que le taux de Na⁺ sérique (140.87±9.52 mmol/dl) est supérieur à celui de la salive (127.57±13.68 mmol/dl). Alors que le taux de K⁺ sérique (4.47±0.56 mmol/dl) est inférieur à celui de la salive (8.74 ± 4.43 mmol/dl).

Par ailleurs et dans la même étude, une corrélation significativement positive a été trouvée entre le taux de Na⁺ salivaire et sérique ($R_{Na^+} = +0.402$, $P_{Na^+} = 0.009^*$) tandis qu'une corrélation positive et non significative a été obtenue pour le K⁺ salivaire et sérique qui ont été comparés et corrélés $R_{K^+} = +0.286$ et $P_{K^+} = 0.073$. Ces résultats n'étaient pas en accord avec nos résultats dans laquelle des corrélations négatives ont été trouvées entre les concentrations de Na⁺ et K⁺ sérique et salivaire ($R_{Na^+} = -0,07787$ et $R_{K^+} = -0,01019$).

En faisant une deuxième comparaison avec l'étude de **Yajamanam** et ses collaborateurs (2016), nous avons trouvé des résultats similaires. Cette étude est portée sur soixante patients atteints d'insuffisance rénale et soixante témoins sains appariés selon l'âge et le sexe. Le Na⁺ et le K⁺ ont été mesurés dans le sérum et la salive ainsi que d'autres paramètres biochimiques. Ils ont trouvé la moyenne de sodium plasmatique supérieure de celle de sodium salivaire (Na_{sanguin} 140 ± 3.4 mmol/L, Na_{salivaire} 19.5 ± 5.6) et la moyenne de potassium plasmatique est inférieure à celle de la salive (K_{sanguin} 4.2 ± 0.3 mmol/L, K_{salivaire} 18.6 ± 6.4).

L'inexistence de corrélation significative entre le sérum et la salive en ce qui concerne le sodium et le potassium pourrait être dû à des facteurs tels que la réabsorption active du sodium et la sécrétion active de potassium par les symporteurs Na-K-Cl en dehors de la diffusion passive (**Chiappin et al., 2007**). Le Na⁺ et le K⁺ ne sont probablement pas utiles pour surveiller les patients insuffisants rénaux (**Yajamanam et al., 2016**).

- La salive présente des avantages distinctifs en tant qu'échantillon biologique alternatif au sang pour le suivi de l'état de la santé des patients. Bien que la composition salivaire soit sous l'influence de la méthode de collecte, l'état d'hydratation, la posture du corps, l'éclairage, le rythme circadien, les variations saisonnières, la taille des glandes, le tabagisme, les stimulants et les médicaments, elle est non invasive et cause moins d'inconvénients aux participants lors d'analyses répétées d'échantillons. Il est proposé que l'estimation de l'urée

dans la salive soit susceptible d'être utiles comme marqueurs biochimiques pour différencier entre les malades et les sujets sains. En ce qui concerne les autres paramètres salivaires, des études complémentaires sont nécessaires pour établir leur rôle (**Yajamanam *et al.*, 2016**).

Conclusion

Conclusion

Le diagnostic salivaire est extrêmement prometteur pour l'objectif à long terme de développer des tests basés sur la salive cliniquement validés pour la surveillance de la santé.

L'objectif de notre travail est d'explorer la possibilité que pourrait avoir la salive comme une source fiable de biomarqueurs biochimiques qui sont capables de détecter certaines maladies par rapport au sang. Nos résultats ont montré qu'il y avait une corrélation négative entre tous les paramètres plasmatiques et salivaires sauf que pour la PAL et l'urée qui ont une corrélation positive et statistiquement significative uniquement pour l'urée. Les taux moyens de la LDH, de l'urée et de potassium étaient plus élevés dans la salive par rapport au plasma, ainsi que les taux de la PAL, des protéines totales et de sodium étaient plus faibles dans la salive par rapport au plasma. Ces différences sont considérées comme significatives ($p < 0,05$) contrairement à la LDH.

Puisque les taux de l'urée plasmatique et salivaire sont positivement corrélés, on conclue qu'il est possible d'utiliser l'urée salivaire pour le diagnostic et la surveillance de l'état de santé général et surtout de la fonction rénale.

Nos résultats montrent que les autres paramètres ; LDH, PAL, protéines totales, Na^+ et K^+ nécessitent des études complémentaires. Les limites de notre travail ont fait que nous ne pouvons pas tirer des conclusions définitives concernant la fiabilité des paramètres biochimiques étudiés dans le diagnostic médicale. Ces limites sont la taille de l'échantillon, l'étude sur des sujets sains uniquement, l'étude sur une seule méthode de collecte de la salive.

Notre travail n'est que le début d'une étude qui mérite d'être complétée par l'utilisation d'un échantillon plus large qui permet une meilleur extrapolation des résultats sur la population. Une comparaison des paramètres biochimiques doit se faire sur deux ou plusieurs groupes de patients ayant des maladies cardiaque, rénale et hépatique et même la comparaison peut se faire à différents stades de la maladie. L'utilisation d'autres méthodes de collecte de la salive (salive stimulée / non stimulée) peut avoir un effet sur résultats. Par ailleurs, l'étude de l'impact de quelques facteurs, comme le tabagisme, permet de tirer des conclusions plus pertinentes.

Références bibliographiques

- Acharya, S., Kale, J., Rai, P., Anehosur, V., Hallikeri, K., 2017. Serum alkaline phosphatase in oral squamous cell carcinoma and its association with clinicopathological characteristics. *South Asian J. Cancer* 06, 125–128. <https://doi.org/10.4103/2278-330X.214574>
- Alhajj, M., Babos, M., 2022. Physiology, Salivation, in: *StatPearls*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Al-Muhtaseb, S.I., 2014. Serum and saliva protein levels in females with breast cancer. *Oncol. Lett.* 8, 2752–2756. <https://doi.org/10.3892/ol.2014.2535>
- Al-Shaheri, F.N., Alhamdani, M.S.S., Bauer, A.S., Giese, N., Büchler, M.W., Hackert, T., Hoheisel, J.D., 2021. Blood biomarkers for differential diagnosis and early detection of pancreatic cancer. *Cancer Treat. Rev.* 96, 102193. <https://doi.org/10.1016/j.ctrv.2021.102193>
- Al-Shura, A.N., 2020. Anatomy of blood and lymph, in: *Advanced Hematology in Integrated Cardiovascular Chinese Medicine*. Elsevier, pp. 3–9. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817572-9.00001-X>
- Amado, F., Calheiros-Lobo, M.J., Ferreira, R., Vitorino, R., 2019. Sample Treatment for Saliva Proteomics, in: Capelo-Martínez, J.-L. (Ed.), *Emerging Sample Treatments in Proteomics, Advances in Experimental Medicine and Biology*. Springer International Publishing, Cham, pp. 23–56. https://doi.org/10.1007/978-3-030-12298-0_2
- Amerongen, N., Oderkerk, C.H., Driessen, A.A., 1987. Role of Mucins from Human Whole Saliva in the Protection of Tooth Enamel against Demineralization in vitro. *Caries Res.* 21, 297–309. <https://doi.org/10.1159/000261033>
- Arthur, J., Atkinson, J., Warren, G., 2001. Biomarkers and surrogate endpoints: Preferred definitions and conceptual framework. *Clin. Pharmacol. Ther.* 69, 89–95. <https://doi.org/10.1067/mcp.2001.113989>
- Äyräväinen, L., Heikkinen, A.M., Kuuliala, A., Ahola, K., Koivuniemi, R., Laasonen, L., Moilanen, E., Hämäläinen, M., Tervahartiala, T., Meurman, J.H., Leirisalo-Repo, M., Sorsa, T., 2018. Inflammatory biomarkers in saliva and serum of patients with rheumatoid arthritis with respect to periodontal status. *Ann. Med.* 50, 333–344. <https://doi.org/10.1080/07853890.2018.1468922>
- Bagalad, B., Mohankumar, K., Madhushankari, G., Donoghue, M., Kuberappa, P., 2017. Diagnostic accuracy of salivary creatinine, urea, and potassium levels to assess dialysis need in renal failure patients. *Dent. Res. J.* 14, 13. <https://doi.org/10.4103/1735-3327.201138>
- Bain, B.J., 2017. Blood Cell Morphology in Health and Disease, in: *Dacie and Lewis Practical Haematology*. Elsevier, pp. 61–92. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-6696-2.00005-9>
- Baskurt, O.K., 2003. Blood Rheology and Hemodynamics. *Semin. Thromb. Hemost.* 29, 16.
- Baughan, L.W., Robertello, F.J., Sarrett, D.C., Denny, P.A., Denny, P.C., 2000. Salivary mucin as related to oral *Streptococcus mutans* in elderly people: Relationship of mucin and *S. mutans*. *Oral Microbiol. Immunol.* 15, 10–14. <https://doi.org/10.1034/j.1399-302x.2000.150102.x>
- Bais, R., Philcox, M., 1994. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 8. IFCC Method for Lactate Dehydrogenase (l-Lactate: NAD⁺Oxidoreductase, EC 1.1.1.27). International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem. J. Forum Eur. Clin. Chem. Soc.* 32, 639–655.

- Bendrihem, R., Vacher, C., 2012. Anatomie des glandes salivaires principales. Application à la chirurgie de la glande sublinguale. *Actual. Odonto-Stomatol.* 41–47. <https://doi.org/10.1051/aos/2012105>
- Bernard, J.-J., Duprez, J.-M., Huille, M., Nougier, P., Pattier, J.-Y., Poulizac, J.-A., 2006. *Manuel de biologie physiologie*, Ellipsees Edition Marketing S.A. ed. 32,rue Bargaue 757440 Paris cedex 15.
- Boros, I., Keszler, P., Zelles, T., 1999. Study of saliva secretion and the salivary fluoride concentration of the human minor labial glands by a new method. *Arch. Oral Biol.* 44, S59–S62. [https://doi.org/10.1016/S0003-9969\(99\)90022-5](https://doi.org/10.1016/S0003-9969(99)90022-5)
- Braamskamp, M.J.A.M., Dolman, K.M., Tabbers, M.M., 2010. Clinical practice: Protein-losing enteropathy in children. *Eur. J. Pediatr.* 169, 1179–1185. <https://doi.org/10.1007/s00431-010-1235-2>
- Buduneli, N., Kinane, D.F., 2011. Host-derived diagnostic markers related to soft tissue destruction and bone degradation in periodontitis: Biomarkers and periodontal disease. *J. Clin. Periodontol.* 38, 85–105. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2010.01670.x>
- Carnot, P., 2018. *Maladies Des Glandes Salivaires Et Du Pancréas...* Creative Media Partners, LLC.
- Castillo, B., Dasgupta, A., Klein, K., Tint, H., Wahed, A., 2018. Blood components: Processing, characteristics, and modifications, in: *Transfusion Medicine for Pathologists*. Elsevier, pp. 19–36. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814313-1.00002-2>
- Castro, H., Raij, L., 2013. Potassium in Hypertension and Cardiovascular Disease. *Semin. Nephrol.* 33, 277–289. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2013.04.008>
- Chiappin, S., Antonelli, G., Gatti, R., De Palo, E.F., 2007. Saliva specimen: A new laboratory tool for diagnostic and basic investigation. *Clin. Chim. Acta* 383, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2007.04.011>
- Cui, Y., Yang, M., Zhu, J., Zhang, H., Duan, Z., Wang, S., Liao, Z., Liu, W., 2022. Developments in diagnostic applications of saliva in human organ diseases. *Med. Nov. Technol. Devices* 13, 100115. <https://doi.org/10.1016/j.medntd.2022.100115>
- Curhan, G., 2005. Cystatin C: A Marker of Renal Function or Something More? *Clin. Chem.* 51, 293–294. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2004.044388>
- De Smet, K., Contreras, R., 2005. Human Antimicrobial Peptides: Defensins, Cathelicidins and Histatins. *Biotechnol. Lett.* 27, 1337–1347. <https://doi.org/10.1007/s10529-005-0936-5>
- Deekajorndech, T., 2007. A Biomarker for Detecting Early Tubulointerstitial Disease and Ischemia in Glomerulonephropathy. *Ren. Fail.* 29, 1013–1017. <https://doi.org/10.1080/08860220701643567>
- Dodds, M.W.J., Johnson, D.A., Yeh, C.-K., 2005. Health benefits of saliva: a review. *J. Dent.* 33, 223–233. <https://doi.org/10.1016/j.jdent.2004.10.009>
- Dolfus, C., Toure, E., Blanchard, F., Sabourin, J.-C., 2016. Les biomarqueurs circulants du cancer : avantages et perspectives. *Rev. Francoph. Lab.* 2016, 51–57. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(16\)30013-2](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(16)30013-2)
- Eckardt, K.-U., Coresh, J., Devuyst, O., Johnson, R.J., Köttgen, A., Levey, A.S., Levin, A., 2013. Evolving importance of kidney disease: from subspecialty to global health burden. *The Lancet* 382, 158–169. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(13\)60439-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(13)60439-0)

- Egloff, B., 2009. Etude des salives artificielles utilisées pour les tests de corrosion des alliages orthodontiques (Thèse d'exercice en chirurgie dentaire). UHP - Université Henri Poincaré, France.
- Farrell, J.J., Zhang, L., Zhou, H., Chia, D., Elashoff, D., Akin, D., Paster, B.J., Joshipura, K., Wong, D.T.W., 2012. Variations of oral microbiota are associated with pancreatic diseases including pancreatic cancer. *Gut* 61, 582–588. <https://doi.org/10.1136/gutjnl-2011-300784>
- Feig, D.I., 2009. Uric acid: a novel mediator and marker of risk in chronic kidney disease? *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 18, 526–530. <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e328330d9d0>
- Forkasiewicz, A., Dorociak, M., Stach, K., Szelachowski, P., Tabola, R., Augoff, K., 2020. The usefulness of lactate dehydrogenase measurements in current oncological practice. *Cell. Mol. Biol. Lett.* 25, 35. <https://doi.org/10.1186/s11658-020-00228-7>
- Ghannam, M.G., Singh, P., 2022. Anatomy, Head and Neck, Salivary Glands, in: StatPearls. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Goyal, G., 2020. Comparison of Salivary and Serum Alkaline Phosphatases Level and Lactate Dehydrogenase Levels in Patients with Tobacco Related Oral Lesions with Healthy Subjects - A Step Towards Early Diagnosis. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 21, 983–991. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2020.21.4.983>
- Gümüş, P., Nizam, N., Nalbantsoy, A., Özçaka, Ö., Buduneli, N., 2014. Saliva and Serum Levels of Pentraxin-3 and Interleukin-1 β in Generalized Aggressive or Chronic Periodontitis. *J. Periodontol.* 85, e40–e46. <https://doi.org/10.1902/jop.2013.130281>
- Herget-rosenthal, S., Marggraf, G., Hüsing, J., Göring, F., Pietruck, F., Janssen, O., Philipp, T., Kribben, A., 2004. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney Int.* 66, 1115–1122. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2004.00861.x>
- Hizir, M.S., Balcioglu, M., Rana, M., Robertson, N.M., Yigit, M.V., 2014. Simultaneous Detection of Circulating OncomiRs from Body Fluids for Prostate Cancer Staging Using Nanographene Oxide. *ACS Appl. Mater. Interfaces* 6, 14772–14778. <https://doi.org/10.1021/am504190a>
- Horn, F., Lindenmeier, G., Grillhosl, C., Moc, I., Berghold, S., Schneider, N., Munster, B., 2002. *biochimie humaine*. Flammarion.
- Hussain, Q.A., McKay, I.J., Gonzales-Marin, C., Allaker, R.P., 2016. Detection of adrenomedullin and nitric oxide in different forms of periodontal disease. *J. Periodontal Res.* 51, 16–25. <https://doi.org/10.1111/jre.12273>
- Ide, M., Jagdev, D., Coward, P.Y., Crook, M., Barclay, G.R., Wilson, R.F., 2004. The Short-Term Effects of Treatment of Chronic Periodontitis on Circulating Levels of Endotoxin, C-Reactive Protein, Tumor Necrosis Factor- α , and Interleukin-6. *J. Periodontol.* 75, 420–428. <https://doi.org/10.1902/jop.2004.75.3.420>
- Karjalainen, S., Sewón, L., Soderling, E., Larsson, B., Johansson, I., Simell, O., Lapinleimu, H., Seppänen, R., 1997. Salivary Cholesterol of Healthy Adults in Relation to Serum Cholesterol Concentration and Oral Health. *J. Dent. Res.* 76, 1637–1643. <https://doi.org/10.1177/00220345970760100401>
- Kauffman, D.L., Keller, P.J., 1979. The basic proline-rich proteins in human parotid saliva from a single subject. *Arch. Oral Biol.* 24, 249–256. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(79\)90085-2](https://doi.org/10.1016/0003-9969(79)90085-2)

- Kessler, A.T., Bhatt, A.A., 2018. Review of the Major and Minor Salivary Glands, Part 1: Anatomy, Infectious, and Inflammatory Processes. *J. Clin. Imaging Sci.* 8, 47. https://doi.org/10.4103/jcis.JCIS_45_18
- Kinane, D.F., 2001. Causation and pathogenesis of periodontal disease: Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontol.* 2000 25, 8–20. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2001.22250102.x>
- Kirwan, A., Utratna, M., O'Dwyer, M.E., Joshi, L., Kilcoyne, M., 2015. Glycosylation-Based Serum Biomarkers for Cancer Diagnostics and Prognostics. *BioMed Res. Int.* 2015, 1–16. <https://doi.org/10.1155/2015/490531>
- Kościełniak, D., Jurczak, A., Zygmunt, A., Krzyściak, W., 2012. Salivary proteins in health and disease. *Acta Biochim. Pol.* 59, 451–457.
- Kurokawa, T., Ohkohchi, N., 2018. Role of Platelet, Blood Stem Cell, and Thrombopoietin in Liver Regeneration, Liver Cirrhosis, and Liver Diseases, in: *Stem Cells and Cancer in Hepatology*. Elsevier, pp. 159–177. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812301-0.00009-8>
- Lacombe, M., 2015. *L'abrégé d'anatomie et de physiologie humaines: les fondamentaux*, 7e éd. ed, DEAS, DEAP. Éditions Lamarre, Malakoff.
- Larsson, B., Olivecrona, G., Ericson, T., 1996. Lipids in human saliva. *Arch. Oral Biol.* 41, 105–110. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(95\)00077-1](https://doi.org/10.1016/0003-9969(95)00077-1)
- Lasisi, T.J., Lawal, F.B., 2019. Preference of saliva over other body fluids as samples for clinical and laboratory investigations among healthcare workers in Ibadan, Nigeria. *Pan Afr. Med. J.* 34, 191. <https://doi.org/10.11604/pamj.2019.34.191.18738>
- Lasisi, T.J., Raji, Y.R., Salako, B.L., 2016. Salivary creatinine and urea analysis in patients with chronic kidney disease: a case control study. *BMC Nephrol.* 17, 10. <https://doi.org/10.1186/s12882-016-0222-x>
- Lawrence, H.P., 2002. Salivary markers of systemic disease: noninvasive diagnosis of disease and monitoring of general health. *J. Can. Dent. Assoc.* 68, 170–174.
- Litwack, G., 2022. Blood and Lymphatic System, in: *Human Biochemistry*. Elsevier, pp. 749–781. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-85718-5.00014-5>
- Malbec, R., Joseph, P., Leichlé, T., Brut, M., Cordelier, P., Bancaud, A., 2016. Laboratoire sur puce intégrant préparation d'échantillon et détection de biomarqueurs cancéreux dans le plasma sanguin 6.
- Mandel, I.D., 1990. The diagnostic uses of saliva. *J. Oral Pathol. Med.* 19, 119–125. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0714.1990.tb00809.x>
- Mandel, I.D., 1989. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *J. Am. Dent. Assoc.* 119, 298–304. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.1989.0211>
- Martini, F., Ober, W.C., Bartholomew, E.F., Nath, J.L., B?langer, H., Mayrand, M., Courchesne, M.-H., Martini, F.H., 2015. *La biologie humaine: une approche visuelle*.
- Melvin, J.E., Yule, D., Shuttleworth, T., Begenisich, T., 2005. REGULATION OF FLUID AND ELECTROLYTE SECRETION IN SALIVARY GLAND ACINAR CELLS. *Annu. Rev. Physiol.* 67, 445–469. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.67.041703.084745>
- Menaka, T., Vasupradha, G., Ravikumar, Ss., Dhivya, K., Dinakaran, J., Saranya, V., 2019. Evaluation of salivary alkaline phosphatase levels in tobacco users to determine its role as a biomarker in oral potentially malignant disorders. *J. Oral Maxillofac. Pathol.* 23, 344. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_317_18

- Miletich, I., 2010. Introduction to Salivary Glands: Structure, Function and Embryonic Development, in: Tucker, A.S., Miletich, I. (Eds.), *Frontiers of Oral Biology*. KARGER, Basel, pp. 1–20. <https://doi.org/10.1159/000313703>
- Mirzaii-Dizgah, M.-H., Mirzaii-Dizgah, M.-R., Mirzaii-Dizgah, I., 2020. Serum and saliva total tau protein as a marker for relapsing-remitting multiple sclerosis. *Med. Hypotheses* 135, 109476. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2019.109476>
- Nadershah, M., Salama, A., 2012. Removal of Parotid, Submandibular, and Sublingual Glands. *Oral Maxillofac. Surg. Clin. N. Am.* 24, 295–305. <https://doi.org/10.1016/j.coms.2012.01.005>
- Navazesh, M., 1993. Methods for Collecting Saliva. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 694, 72–77. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1993.tb18343.x>
- Panda, A., Behura, S., Bhuyan, L., Dash, K., Kumar, V., Mukherjee, S., 2020. Assessment of lactate dehydrogenase enzyme levels in saliva and serum of oral submucous fibrosis and leukoplakia patients. *J. Oral Maxillofac. Pathol.* 24, 183. https://doi.org/10.4103/jomfp.JOMFP_214_19
- Pandarathodiyil, A.K., Ramanathan, A., Garg, R., Doss, J.G., Abd Rahman, F.B., Ghani, W.M., Warnakulasuriya, S., 2021. Lactate Dehydrogenase Levels in the Saliva of Cigarette and E-Cigarette Smokers (Vapers): A Comparative Analysis. *Asian Pac. J. Cancer Prev.* 22, 3227–3235. <https://doi.org/10.31557/APJCP.2021.22.10.3227>
- Papagerakis, P., Zheng, L., Kim, D., Said, R., Ehlert, A.A., Chung, K.K.M., Papagerakis, S., 2019. Saliva and Gingival Crevicular Fluid (GCF) Collection for Biomarker Screening, in: Papagerakis, P. (Ed.), *Odontogenesis, Methods in Molecular Biology*. Springer New York, New York, NY, pp. 549–562. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9012-2_41
- Passoja, A., Puijola, I., Knuutila, M., Niemelä, O., Karttunen, R., Raunio, T., Tervonen, T., 2010. Serum levels of interleukin-10 and tumour necrosis factor- α in chronic periodontitis: Systemic inflammatory responses in chronic periodontitis. *J. Clin. Periodontol.* 37, 881–887. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2010.01602.x>
- Pedersen, A.M.L., Sørensen, C.E., Proctor, G.B., Carpenter, G.H., Ekström, J., 2018. Salivary secretion in health and disease. *J. Oral Rehabil.* 45, 730–746. <https://doi.org/10.1111/joor.12664>
- Pham, T.A.V., 2017. Validation of the salivary urea and creatinine tests as screening methods of chronic kidney disease in Vietnamese patients. *Acta Odontol. Scand.* 75, 551–556. <https://doi.org/10.1080/00016357.2017.1356467>
- Proctor, G.B., Carpenter, G.H., 2014. Salivary Secretion: Mechanism and Neural Regulation, in: Ligtenberg, A.J.M., Veerman, E.C.I. (Eds.), *Monographs in Oral Science*. S. KARGER AG, Basel, pp. 14–29. <https://doi.org/10.1159/000358781>
- Roblegg, E., Coughran, A., Sirjani, D., 2019. Saliva: An all-rounder of our body. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 142, 133–141. <https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2019.06.016>
- Schafer, C.A., Schafer, J.J., Yakob, M., Lima, P., Camargo, P., Wong, D.T.W., 2014. Saliva Diagnostics: Utilizing Oral Fluids to Determine Health Status, in: Ligtenberg, A.J.M., Veerman, E.C.I. (Eds.), *Monographs in Oral Science*. S. KARGER AG, Basel, pp. 88–98. <https://doi.org/10.1159/000358791>
- Schwarzenbach, H., Hoon, D.S.B., Pantel, K., 2011. Cell-free nucleic acids as biomarkers in cancer patients. *Nat. Rev. Cancer* 11, 426–437. <https://doi.org/10.1038/nrc3066>
- Shetty, S.R., Chadha, R., Babu, S., Kumari, S., Bhat, S., Achalli, S., 2012. Salivary lactate dehydrogenase levels in oral leukoplakia and oral squamous cell carcinoma: a

- biochemical and clinicopathological study. *J. Cancer Res. Ther.* 8 Suppl 1, S123-125. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.92226>
- Sigel, A., Sigel, H., Sigel, R.K.O. (Eds.), 2013. *Interrelations between Essential Metal Ions and Human Diseases, Metal Ions in Life Sciences*. Springer Netherlands, Dordrecht. <https://doi.org/10.1007/978-94-007-7500-8>
- Silvers, A.R., Som, P.M., 1998. SALIVARY GLANDS. *Radiol. Clin. North Am.* 36, 941–966. [https://doi.org/10.1016/S0033-8389\(05\)70070-1](https://doi.org/10.1016/S0033-8389(05)70070-1)
- Sita-Lumsden, A., Fletcher, C.E., Dart, D.A., Brooke, G.N., Waxman, J., Bevan, C.L., 2013. Circulating nucleic acids as biomarkers of prostate cancer. *Biomark. Med.* 7, 867–877. <https://doi.org/10.2217/bmm.13.104>
- Sivaramakrishnan, M., Sivapathasundharam, B., Jananni, M., 2015. Evaluation of lactate dehydrogenase enzyme activity in saliva and serum of oral submucous fibrosis patients. *J. Oral Pathol. Med.* 44, 449–452. <https://doi.org/10.1111/jop.12246>
- Souza, A.G., Colli, L.M., 2022. Extracellular Vesicles and Interleukins: Novel Frontiers in Diagnostic and Therapeutic for Cancer. *Front. Immunol.* 13, 836922. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.836922>
- Strimbu, K., Tavel, J.A., 2010. What are biomarkers?: *Curr. Opin. HIV AIDS* 5, 463–466. <https://doi.org/10.1097/COH.0b013e32833ed177>
- Tabak, L.A., 2001. A revolution in biomedical assessment: the development of salivary diagnostics. *J. Dent. Educ.* 65, 1335–1339.
- Tesch, G.H., 2010. Review: Serum and urine biomarkers of kidney disease: A pathophysiological perspective: Biomarkers of kidney disease. *Nephrology* 15, 609–616. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1797.2010.01361.x>
- Talke, H., Schubert, G.E., 1965. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut und Serum im optischen Test nach Warburg. *Klin. Wochenschr.* 43, 174–175. <https://doi.org/10.1007/BF01484513>
- Tietz, N., 1987. *Fundamentals of Clinical Chemistry*, 3rd ed. ed. Philadelphia.
- Tietz, N.W., Rinker, A.D., Shaw, L.M., 1983. IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes Part 5. IFCC method for alkaline phosphatase (orthophosphoric-monoester phosphohydrolase, alkaline optimum, EC 3.1.3.1). *J. Clin. Chem. Clin. Biochem. Z. Klin. Chem. Klin. Biochem.* 21, 731–748.
- Tivey, A., Britton, F., Scott, J.-A., Rothwell, D., Lorigan, P., Lee, R., 2022. Circulating Tumour DNA in Melanoma—Clinic Ready? *Curr. Oncol. Rep.* 24, 363–373. <https://doi.org/10.1007/s11912-021-01151-6>
- Tortora, G.J., Derrickson, B., Dubé, S., Martin, L., 2016. *Manuel d’anatomie et de physiologie humaines*, 2e éd. ed. De Boeck supérieur, Louvain-la-Neuve (Belgique) [Paris].
- Tortora, G.J., Derrickson, B., Martin, L., Forest, M., 2009. *Manuel d’anatomie et de physiologie humaines*. De Boeck Éd. du Renouveau pédagogique, Bruxelles [Paris] [Saint-Laurent (Québec)].
- Trigui, Y., 2018. Biomarqueurs de la salive et santé générale 116.
- Troxler, R.F., Iontcheva, I., Oppenheim, F.G., Nunes, D.P., Offner, G.D., 1997. Molecular characterization of a major high molecular weight mucin from human sublingual gland. *Glycobiology* 7, 965–973. <https://doi.org/10.1093/glycob/7.7.965>
- Tvarijonaviciute, A., Martínez-Subiela, S., López-Jornet, P., Lamy, E. (Eds.), 2020. *Saliva in Health and Disease: The Present and Future of a Unique Sample for Diagnosis*. Springer International Publishing, Cham. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-37681-9>

- van Nieuw Amerongen, A., Bolscher, J.G.M., Veerman, E.C.I., 2004. Salivary Proteins: Protective and Diagnostic Value in Cariology? *Caries Res.* 38, 247–253. <https://doi.org/10.1159/000077762>
- Veerman, E.C.I., Keybus, P.A.M., Vissink, A., Amerongen, A.V.N., 1996. Human glandular salivas: their separate collection and analysis. *Eur. J. Oral Sci.* 104, 346–352. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0722.1996.tb00090.x>
- Waikar, S.S., Bonventre, J.V., 2006. Can We Rely on Blood Urea Nitrogen as a Biomarker to Determine When to Initiate Dialysis? *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 1, 903–904. <https://doi.org/10.2215/CJN.02560706>
- Wei, F., Lin, C.-C., Joon, A., Feng, Z., Troche, G., Lira, M.E., Chia, D., Mao, M., Ho, C.-L., Su, W.-C., Wong, D.T.W., 2014. Noninvasive Saliva-based *EGFR* Gene Mutation Detection in Patients with Lung Cancer. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 190, 1117–1126. <https://doi.org/10.1164/rccm.201406-1003OC>
- Weichselbaum, T.E., 1946. An accurate and rapid method for the determination of proteins in small amounts of blood serum and plasma. *Am. J. Clin. Pathol.* 10, 40–49.
- Wu, T., Trevisan, M., Genco, R.J., Falkner, K.L., Dorn, J.P., Sempos, C.T., 2000. Examination of the Relation between Periodontal Health Status and Cardiovascular Risk Factors: Serum Total and High Density Lipoprotein Cholesterol, C-reactive Protein, and Plasma Fibrinogen. *Am. J. Epidemiol.* 151, 273–282. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a010203>
- Xiao, H., Zhang, L., Zhou, H., Lee, J.M., Garon, E.B., Wong, D.T.W., 2012. Proteomic Analysis of Human Saliva From Lung Cancer Patients Using Two-Dimensional Difference Gel Electrophoresis and Mass Spectrometry. *Mol. Cell. Proteomics* 11, M111.012112. <https://doi.org/10.1074/mcp.M111.012112>
- Yajamanam, N., Vinapamula, K., Sivakumar, V., Bitla, A., Rao, P.V.L.N.S., 2016. Utility of saliva as a sample to assess renal function and estimated glomerular filtration rate. *Saudi J. Kidney Dis. Transplant.* 27, 312. <https://doi.org/10.4103/1319-2442.178549>
- Yang, F., Tang, J., Zhao, Z., Zhao, C., Xiang, Y., 2021. Circulating tumor DNA: a noninvasive biomarker for tracking ovarian cancer. *Reprod. Biol. Endocrinol.* 19, 178. <https://doi.org/10.1186/s12958-021-00860-8>
- Zekeridou, A., 2019. L'inflammation systemique et locale dans la parodontite : le lien entre les biomarqueurs inflammatoires dans le serum et le fluide creviculaire gingival. <https://doi.org/10.13097/ARCHIVE-OUVERTE/UNIGE:119427>
- Zhang, Y., Sun, J., Lin, C.-C., Abemayor, E., Wang, M.B., Wong, D.T.W., 2016. The emerging landscape of salivary diagnostics. *Periodontol.* 2000 70, 38–52. <https://doi.org/10.1111/prd.12099>
- Zheng, P., Chen, H., Shi, S., Jepsen, S., Eberhard, J., 2006. Periodontal parameters and platelet-activating factor levels in serum and gingival crevicular fluid in a Chinese population. *J. Clin. Periodontol.* 33, 797–802. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2006.00987.x>

Annexes

Annexe 1 : Fiche de renseignement des participants à l'étude

Etude des biomarqueurs dans la salive des sujets considérés sains

SERVICE DE BIOCHIMIE CHU ANNABA

Dosage de l'urée, protides, LDH, PAL, Na⁺/K⁺

<p>Identification du patient</p> <ul style="list-style-type: none"> • Nom :..... • Prénom :..... • Age :..... • Sexe : femme <input type="checkbox"/> homme <input type="checkbox"/> • Profession :..... 	<p>Prélèvement</p> <ul style="list-style-type: none"> • date du prélèvement :...../...../..... • Numéro de prélèvement : <ul style="list-style-type: none"> ○ Sanguin..... ○ Salivaire..... • Lieu de prélèvement :.....
--	---

<p>Renseignements cliniques</p> <p>Le poids :kg la taille :m IMC =</p>

<p>Les antécédents personnels</p> <ul style="list-style-type: none"> • Médicaux <p>Avez-vous présenté ou présentez vous une de ces maladies ?</p> <p>-les maladies bucco dentaires :..... OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> carie dentaire <input type="checkbox"/> parodontite <input type="checkbox"/> gingivite <input type="checkbox"/> pulpite dentaire <input type="checkbox"/> abcès dentaire <input type="checkbox"/> les aphtes <input type="checkbox"/> xérostomie (sècheresse buccale) <input type="checkbox"/></p> <p>-les traumatismes bucco dentaires :..... OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/></p> <p>-les maladies endocriniennes :OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> diabète <input type="checkbox"/> hypothyroïdie <input type="checkbox"/> insuffisance des glandes surrénales <input type="checkbox"/></p> <p>-les maladies rénales:..... OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> glomérulonéphrite <input type="checkbox"/> IRC <input type="checkbox"/> lithiase <input type="checkbox"/> néphropathie <input type="checkbox"/></p> <p>-les maladies hépatiques :..... OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> hépatite <input type="checkbox"/> cirrhose <input type="checkbox"/> stéatose <input type="checkbox"/> cholécystite <input type="checkbox"/> cancer du foie <input type="checkbox"/> IH <input type="checkbox"/></p> <p>-les maladies auto immunes : OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> syndrome sec <input type="checkbox"/></p> <p>-les maladies du système digestif :..... OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> cancer de la bouche et la gorge <input type="checkbox"/></p> <p>-les maladies respiratoires et ORL :..... OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> sarcoïdose <input type="checkbox"/></p> <p>-la maladie cardiaque et vasculaire :..... OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> HTA <input type="checkbox"/> IC <input type="checkbox"/> infarctus <input type="checkbox"/> Avc <input type="checkbox"/> embolie pulmonaire <input type="checkbox"/> angine de poitrine <input type="checkbox"/></p> <p>-les maladies hématologiques :..... OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/> Anémie <input type="checkbox"/> anémie de Biermer <input type="checkbox"/></p> <p>-les maladies infectieuses :..... OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/></p>

VIH <input type="checkbox"/> oreillons <input type="checkbox"/> la mononucléose <input type="checkbox"/>	
-les maladies systémiques :.....	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
le lupus érythémateux systémique <input type="checkbox"/>	
-les maladies rhumatologiques :.....	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
polyarthrite rhumatoïde <input type="checkbox"/> goutte <input type="checkbox"/>	
-les maladies du pancréas :.....	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
Pancréatite <input type="checkbox"/>	
-les maladies neuromusculaires :.....	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
Dystrophie musculaire <input type="checkbox"/> myopathie <input type="checkbox"/>	
-les maladies osseuses :.....	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
maladie de Paget <input type="checkbox"/> rachitisme <input type="checkbox"/> arthrose <input type="checkbox"/> ostéosarcome <input type="checkbox"/>	
-les maladies des yeux :.....	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
-les maladies de la peau :.....	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
➤ Chirurgicaux	
Chirurgie maxillo-faciale :.....	OUI <input type="checkbox"/> NON <input type="checkbox"/>
➤ Traitement en cours	
les antidépresseurs <input type="checkbox"/> les antihistaminiques <input type="checkbox"/> les antipsychotiques <input type="checkbox"/> les antiparkinsoniens <input type="checkbox"/>	
les sédatifs <input type="checkbox"/> la métyldopa <input type="checkbox"/> les diurétiques <input type="checkbox"/> la méthamphétamine <input type="checkbox"/> la chimiothérapie <input type="checkbox"/>	
la radiothérapie <input type="checkbox"/> l'iode radioactif <input type="checkbox"/> les antiépileptiques <input type="checkbox"/> les hypolipémiants <input type="checkbox"/> les	
œstrogènes <input type="checkbox"/> les anticoagulants oraux <input type="checkbox"/> Les AINS <input type="checkbox"/> bêtabloquants <input type="checkbox"/> les corticoïdes <input type="checkbox"/>	
➤ Toxique	
Tabac : OUI <input type="checkbox"/>	NON <input type="checkbox"/>
Alcool : OUI <input type="checkbox"/>	NON <input type="checkbox"/>
✚ Les antécédents familiaux	
IR <input type="checkbox"/>	IH <input type="checkbox"/> IC <input type="checkbox"/>
✚ Les données biologiques	
✚ Le prélèvement sanguin :	✚ Le prélèvement salivaire :
• Urée :.....mmol/l	• Urée :.....mmol/l
• Protides :.....gr/l	• Protides :.....gr/l
• LDH :.....u/l	• LDH :.....u/l
• PAL :.....u/l	• PAL :.....u/l
• Na+ :.....mmol/l	• Na+ :.....mmol/l
• K+ :.....mmol/l	• K+ :.....mmol/l

Annexe 2 : Fiche technique du kit de dosage du lactate déshydrogénase LDH

0003004732122COINV7.0

LDHI2

Lactate Dehydrogenase acc. IFCC ver.2



Enzymes

Références de commande

REF	CONTENT	cobas c pack(s) utilisable(s) sur les analyseurs suivants	
03004732 122	Lactate Dehydrogenase acc. to IFCC ver.2 (300 tests)	System-ID 07 6607 0	COBAS INTEGRA 400 plus COBAS INTEGRA 800
1075935 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	System-ID 07 3718 6	
1075935 360	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 3718 6	
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 7999 7	
12149435 160	Precinorm U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 7999 7	
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 8000 6	
12149443 160	Precipath U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 8000 6	
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0	
10171735 122	Precinorm U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0	
10171778 122	Precipath U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9	
10171760 122	Precipath U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9	
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3	
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3	
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, pour les USA)	System-ID 07 7469 3	
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7	
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7	
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, pour les USA)	System-ID 07 7470 7	

Français

Informations techniques

Test LDHI2, test ID 0-607.

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative de l'activité catalytique de la LDH (EC 1.1.1.27, L-lactate: NAD⁺ oxydoréductase) dans le sérum et le plasma humains sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

Caractéristiques^{1,2,3,4}

La lactate déshydrogénase (LDH) est une enzyme très répandue dans les tissus, en particulier dans le myocarde, le foie, les muscles et les reins. La LDH se trouve dans le sérum sous forme de cinq isoenzymes qui peuvent être séparées par électrophorèse. Chaque isoenzyme est un tétramère composé de deux sous-unités différentes. Ces deux sous-unités ont été dénommées cœur et muscle, selon leur chaîne polypeptidique. On compte deux homotétramères, la LDH-1 (cœur) et la LDH-5 (muscle), et trois isoenzymes hybrides.

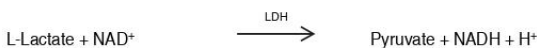
Des taux élevés de LDH sont observés dans différentes maladies. Les taux les plus élevés se rencontrent en cas d'anémie mégalo-blastique, de cancer avec métastases et de choc. Des augmentations modérées sont observées en cas d'affections musculaires, de syndrome néphrotique et de cirrhose. De faibles augmentations d'activité de la LDH ont été signalées en cas d'infarctus du myocarde ou d'infarctus pulmonaire, de leucémie, d'anémie hémolytique et d'hépatites d'origine non virale.

La méthode décrite ci-après est conforme aux recommandations de la Fédération Internationale de Chimie Clinique (IFCC).⁵

Principe

Test UV

La lactate déshydrogénase catalyse la transformation du L-lactate en pyruvate. Le NAD⁺ est réduit en NADH.



La vitesse de formation du NADH est directement proportionnelle à l'activité catalytique de la LDH. Elle est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 340 nm.

Réactifs - composition et concentrations

R1 N-méthyl-D-glucamine: 400 mmol/L, pH 9.4 (37 °C); lactate de lithium: 62 mmol/L; stabilisateurs; conservateur

SR NAD: 62 mmol/L; stabilisateurs; conservateur

R1 est en position B et SR est en position C.

Précautions d'emploi et mises en garde

Observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde indiquée dans le Chapitre 1 / Introduction du présent Recueil de méthodologies.

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Avant ouverture, entre 2 et 8 °C

Voir date de péremption sur l'étiquette du **cobas c pack**.

Analyseur COBAS INTEGRA 400 plus

Sur l'analyseur, entre 10 et 15 °C

12 semaines

Analyseur COBAS INTEGRA 800

Sur l'analyseur, à 8 °C

12 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Seuls les types d'échantillons indiqués ci-dessous ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum (exempt d'hémolyse)

Plasma (exempt d'hémolyse): sang total recueilli sur héparinate de lithium, de sodium ou d'ammonium

Ne pas utiliser d'autres anticoagulants. Le plasma peut être contaminé par des plaquettes qui contiennent des concentrations élevées de lactate-déshydrogénase; son utilisation est donc à éviter.^{6,7} Pour les utilisateurs ayant obtenu des résultats erronés dus à un gradient de lactate-déshydrogénase dans les tubes primaires de plasma, l'application LDIP2 (0-507; non disponible aux USA) est disponible.

Séparer immédiatement le sérum ou le plasma du caillot et le doser rapidement.⁸

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test: les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires

0003004732122COINV7.0

LDHI2

Lactate Dehydrogenase acc. IFCC ver.2**cobas**[®]
Enzymes

(systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité:⁹ 7 jours entre 15 et 25 °C. Les échantillons peuvent être conservés 4 jours entre 2 et 8 °C ou 6 semaines à -20 °C. Dans certaines affections (hépatopathie, maladie du muscle squelettique, tumeurs malignes, par ex.), les isoenzymes LDH-4 et LDH-5 sont augmentées et instables dans les échantillons réfrigérés et congelés. La valeur de LDH obtenue dans les échantillons de patients présentant de telles affections peut alors être incorrecte.

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans le présent document. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Application pour le sérum et le plasma**COBAS INTEGRA 400 plus Définition du test**

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	340/659 nm
Calc. premier/dernier	48/64
Unité	U/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	100 µL	
Echantillon	4 µL	4 µL
SR	20 µL	10 µL
Volume total	138 µL	

COBAS INTEGRA 800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	340/659 nm
Calc. premier/dernier	70/98
Unité	U/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	100 µL	
Echantillon	4 µL	4 µL
SR	20 µL	10 µL
Volume total	138 µL	

Calibration

Calibrateur	Calibrator f.a.s. Utiliser de l'eau désionisée pour le calibrateur zéro.
Type calibration	Régression linéaire
Nombre de répliques	Duplication recommandée
Fréquence des calibrations	A chaque lot et si le contrôle de qualité l'exige

Traçabilité: La méthode a été standardisée manuellement par rapport à la formulation originale de l'IFCC (1994).

Contrôle de qualité

Valeurs de référence	Precinorm U, Precinorm U plus ou PreciControl ClinChem Multi 1
Limites pathologiques	Precipath U, Precipath U plus ou PreciControl ClinChem Multi 2
Fréquence des contrôles	24 heures recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section « Références de commande ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.

La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites définies.

Se conformer à la réglementation gouvernementale et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement l'activité en analyse de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour les analyseurs COBAS INTEGRA 400 plus/800).

Facteur de conversion: U/L × 0.0167 = µkat/L

Limites d'utilisation - interférences

Critère d'acceptabilité: Recouvrement ± 10 % de la valeur initiale.

Sérum/plasma

Ictère:¹⁰ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice I de 60 pour la bilirubine conjuguée et non conjuguée (concentration approximative en bilirubine conjuguée et non conjuguée: 1026 µmol/L ou 60 mg/dL).

Hémolyse:¹⁰ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 10 (concentration approximative d'hémoglobine: 6 µmol/L ou 10 mg/dL).

Lipémie (Intralipid):¹⁰ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice L de 2000. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre l'indice de turbidité L et la concentration en triglycérides.

Médicaments: Aucune interférence n'a été trouvée aux concentrations thérapeutiques dans un panel de médicaments fréquemment administrés.^{11, 12}

Dans de très rares cas, la gammopathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.¹³

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

ACTION NÉCESSAIRE

Programmation de lavages spéciaux: Sur les analyseurs COBAS INTEGRA, certaines combinaisons de tests nécessitent la programmation d'étapes de lavage spéciales. Pour de plus amples informations, se référer à la fiche technique CLEAN et la dernière version de la liste des cycles de lavage spéciaux (EWC).

Le cas échéant, des lavages spéciaux/de prévention des contaminations doivent être implémentés avant d'établir un rapport avec ce test.

0003004732122COINV.7.0

LDHI2

Lactate Dehydrogenase acc. IFCC ver.2



Enzymes
Limites et intervalles**Domaine de mesure**

10-1000 U/L (0.167-16.7 µkat/L)

Déterminer les échantillons ayant des activités plus élevées via la fonction Réanalyse. La dilution des échantillons déterminés par la fonction réanalyse est de 1/10. Les résultats des échantillons dilués pour la réanalyse sont automatiquement multipliés par le facteur 10.

Limites inférieures de mesure

Limite inférieure de détection du test:

10 U/L (0.167 µkat/L)

La limite inférieure de détection correspond à la plus faible concentration mesurable en analyte pouvant être distinguée de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au triple de l'écart-type du standard zéro (standard zéro + 3s, répétabilité, n = 21).

Valeurs de référenceSelon l'IFCC, mesure à 37 °C:¹⁴

Femmes	135-214 U/L	(2.25-3.55 µkat/L)
Hommes	135-225 U/L	(2.25-3.75 µkat/L)
Enfants (2 à 15 ans)	120-300 U/L	(2.00-5.00 µkat/L)
Nouveau-nés (4 à 20 j)	225-600 U/L	(3.75-10.0 µkat/L)

Valeurs consensuelles:¹⁵

Hommes et femmes	jusqu'à 250 U/L	(jusqu'à 4.2 µkat/L)
------------------	--------------------	----------------------

Les intervalles de référence pour la population pédiatrique n'ont pas été évalués par Roche.

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

Performances analytiques

Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec des analyseurs COBAS INTEGRA. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La précision a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne: répétabilité (n = 21) et précision intermédiaire (1 aliquote par série, 1 série par jour sur 10 jours). Les résultats suivants ont été obtenus:

Répétabilité	Niveau 1	Niveau 2
Moyenne	149 U/L (2.5 µkat/L)	236 U/L (3.9 µkat/L)
CV	1.0 %	0.6 %

Précision intermédiaire	Niveau 1	Niveau 2
Moyenne	155 U/L (2.6 µkat/L)	246 U/L (4.1 µkat/L)
CV	1.1 %	1.1 %

Comparaison de méthodes

Les taux de LDH dans le sérum et le plasma humains obtenus avec le réactif COBAS INTEGRA Lactate Dehydrogenase acc. to IFCC ver.2 (LDHI2) (y) sur un analyseur COBAS INTEGRA 700 ont été comparés aux taux obtenus avec le réactif correspondant sur un analyseur Roche/Hitachi 917 (x) et avec le réactif précédent (LDHI) sur un analyseur COBAS INTEGRA 700 (x).
n = 69

Analyseur Roche/Hitachi 917

Passing/Bablok ¹⁶	Régression linéaire
y = 1.032x - 3.57 U/L	y = 0.995x + 6.86 U/L
r = 0.969	r = 0.998
SD (md 95) = 20.1	Sy.x = 11.7

Les activités des échantillons étaient situées entre 66 et 1465 U/L (1.10 et 24.5 µkat/L).

Analyseur COBAS INTEGRA 700

Passing/Bablok ¹⁶	Régression linéaire
y = 1.017x - 2.89 U/L	y = 1.003x - 0.316 U/L
r = 0.985	r = 1.000
SD (md 95) = 8.45	Sy.x = 4.35

Les activités des échantillons étaient situées entre 66 et 1419 U/L (1.10 et 23.7 µkat/L).

Références bibliographiques

- Thomas L, ed. Labor und Diagnose, 4th ed. Marburg: Die Medizinische Verlagsgesellschaft 1992.
- Moss DW, Henderson AR, Kachmar JF. Enzymes. In: Tietz NW, ed. Fundamentals of Clinical Chemistry, 3rd ed. Philadelphia, PA: WB Saunders 1987;346-421.
- Zimmerman HJ, Henry JB In: Henry JB, ed. Clinical Diagnosis and Management by Laboratory Methods. 17th ed. Philadelphia, PA: WB Saunders 1984;251-282.
- Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia PA: WB Saunders Company 1995;251-282.
- van der Heiden C, Bais R, Gerhardt W, et al. Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 8. IFCC method for lactate dehydrogenase. Eur J Clin Chem Clin Biochem 1994;32:639-655.
- Bais R, Philcox M. Approved recommendations of IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 8. IFCC method for lactate dehydrogenase. International Federation of Clinical Chemistry (IFCC). Eur J Clin Chem Clin Biochem 1994;32(8):639-655.
- Burtis CA, Ashwood ER. Tietz Textbook of Clinical Chemistry, 3rd ed. Pa: WB Saunders Co 1999;669.
- Tietz NW, ed. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3rd ed. Philadelphia PA: WB Saunders Company 1995;384-385.
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev. 2. Jan. 2002.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
- Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
- Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.
- Lorentz K, Röhle G. Einführung der neuen Standardmethoden 1994 zur Bestimmung der katalytischen Enzymkonzentration bei 37 °C. Klin Chem Mitt 1995;26:290-293.
- Thomas L, Müller M, Schumann G, et al Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. J Lab Med 2005; 29(5):301-308.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

Dans cette fiche technique, le séparateur décimal pour partager la partie décimale de la partie entière d'un nombre décimal est un point. Aucun séparateur de milliers n'est utilisé.

Symboles

Roche Diagnostics utilise les signes et les symboles suivants en plus de ceux de la norme ISO 15223-1.

CONTENT Contenu du coffret

0003004732122COINV7.0

LDHI2

Lactate Dehydrogenase acc. IFCC ver.2

cobas[®]
Enzymes



Volume après reconstitution ou
homogénéisation

Les modifications importantes par rapport à la version précédente sont signalées par une barre verticale dans la marge.

© 2014, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

Assemblé et distribué par:
Roche Diagnostics, Indianapolis, Service clientèle IN
USA 1-800-428-2336



Annexe 3 : Fiche technique du kit de dosage du Phosphatase alcaline PAL

000333752190c501V8.0

ALP2

Alkaline Phosphatase acc. to IFCC Gen.2

Références de commande

REF	CONTENT		cobas c pack(s) utilisable(s) sur les analyseurs suivants
03333752 190	Alkaline Phosphatase acc. to IFCC Gen.2 ALP2S 200 tests	System-ID 07 6761 1	Roche/Hitachi cobas c 311 , cobas c 501/502
03333701 190	Alkaline Phosphatase acc. to IFCC Gen.2 ALP2L 400 tests	System-ID 07 6760 3	Roche/Hitachi cobas c 311 , cobas c 501/502
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	Code 401	
10759350 360	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, pour les USA)	Code 401	
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	Code 300	
12149435 160	Precinorm U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	Code 300	
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	Code 301	
12149443 160	Precipath U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	Code 301	
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	Code 300	
10171735 122	Precinorm U (4 x 5 mL)	Code 300	
10171778 122	Precipath U (20 x 5 mL)	Code 301	
10171760 122	Precipath U (4 x 5 mL)	Code 301	
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	Code 391	
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	Code 391	
05947626 160	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL, pour les USA)	Code 391	
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	Code 392	
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	Code 392	
05947774 160	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL, pour les USA)	Code 392	
04489357 190	Diluent NaCl 9 % (50 mL)	System-ID 07 6869 3	

Français

Informations techniques

Pour les analyseurs **cobas c 311/501**:

ALP2S: ACN 158

ALP2L: ACN 683

Pour l'analyseur **cobas c 502**:

ALP2S: ACN 8158

ALP2L: ACN 8683

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative de la phosphatase alcaline dans le sérum et le plasma humains sur les systèmes Roche/Hitachi **cobas c**.

Caractéristiques^{1,2,3,4,5,6}

La phosphatase alcaline sérique est constituée de quatre types différents de phosphatase alcaline codés par quatre gènes structuraux différents: la phosphatase alcaline d'origine hépatique, osseuse et rénale, la phosphatase alcaline intestinale, la phosphatase alcaline placentaire et la phosphatase alcaline des cellules germinales. La phosphatase alcaline se trouve dans les ostéoblastes, les hépatocytes, les leucocytes, le rein, la rate, le placenta, la prostate et l'intestin grêle. La phosphatase alcaline d'origine hépatique, osseuse et rénale présente une importance toute particulière.

Une augmentation du taux de phosphatase alcaline se rencontre dans toutes les formes de cholestase, en particulier en cas d'ictère par obstruction. Elle est également augmentée dans les maladies osseuses (maladie de Paget, hyperparathyroïdie, rachitisme, ostéomalacie) ainsi qu'en cas de fractures et de tumeurs malignes. Une augmentation importante de l'activité de la phosphatase alcaline peut être observée temporairement chez les enfants et les adolescents; elle est due à une activité accrue des ostéoblastes par suite d'une accélération de la croissance osseuse.

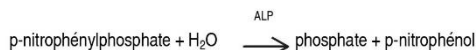
La méthode de dosage de la phosphatase alcaline a été décrite pour la première fois par King et Armstrong; elle a ensuite été modifiée par Ohmori, puis par Bessey, Lowry et Brock et améliorée par Hausamen et coll. En 1983, la Fédération Internationale de Chimie Clinique (IFCC) a recommandé une méthode standardisée de détermination de l'activité de la phosphatase alcaline avec une concentration optimisée de substrat et utilisation d' amino-2 méthyl-2 propanol(-1) avec des cations magnésium et zinc comme tampon. Le test décrit ici est fondé sur cette recommandation;

les performances analytiques et la stabilité ont été optimisées. Le test a été standardisé par rapport à la formulation de référence de l'IFCC indiquée ci-dessus.

Principe⁶

Test colorimétrique selon une méthode standardisée.

En présence d'ions magnésium et zinc, le p-nitrophénylphosphate est scindé par les phosphatases alcalines en phosphate et p-nitrophénol.



La quantité de p-nitrophénol libéré est proportionnelle à l'activité de la phosphatase alcaline. Elle est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance.

Réactifs - composition et concentrations

- R1** amino-2 méthyl-2 propanol(-1) 1.724 mol/L, pH 10.44 (30 °C);
acétate de magnésium: 3.83 mmol/L; sulfate de zinc:
0.766 mmol/L;
acide N-(hydroxy-2 éthyl)-éthylènediaminotriacétique: 3.83 mmol/L
- R2** p-nitrophénylphosphate: 132.8 mmol/L, pH 8.50 (25 °C);
conservateurs

R1 est en position B et R2 en position C.

Précautions d'emploi et mises en garde

Pour diagnostic in vitro.

Observer les précautions habituelles de manipulation en laboratoire. L'élimination de tous les déchets doit être effectuée conformément aux dispositions légales.

Fiche de données de sécurité disponible sur demande pour les professionnels.

Ce coffret contient les substances suivantes classées selon la directive européenne 1999/45/CE:

R1 contient de l' amino-2 méthyl-2 propanol(-1).



Xi Irritant

R 36/38 Irritant pour les yeux et la peau.

000333752190c501V8.0

ALP2

Alkaline Phosphatase acc. to IFCC Gen.2

cobas[®]

S 24/25 Éviter le contact avec la peau et les yeux.
 Contact tél.: tous pays: +49-621-7590, USA: +1-800-428-2336

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

ALP2S, ALP2L

Avant ouverture, entre 2 et 8 °C: Voir date de péremption sur l'étiquette du **cobas c pack**.

A bord, en cours d'utilisation et réfrigéré sur l'analyseur: 8 semaines

Diluent NaCl 9 %

Avant ouverture, entre 2 et 8 °C: Voir date de péremption sur l'étiquette du **cobas c pack**.

A bord, en cours d'utilisation et réfrigéré sur l'analyseur: 12 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Seuls les types d'échantillons indiqués ci-dessous ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum

Plasma: Plasma recueilli sur héparinate de lithium.

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test: les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité:⁷
 7 jours entre 15 et 25 °C
 7 jours entre 2 et 8 °C
 2 mois entre -15 et -25 °C

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Matériel auxiliaire nécessaire

- Voir paragraphe « Références de commande ».

Équipement habituel de laboratoire

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans le présent document. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

En cas d'utilisation de tests non validés par Roche, les performances analytiques ne sont pas garanties et doivent être définies par l'utilisateur.

Applications pour le sérum et le plasma**cobas c 311 Définition du test**

Mode de mesure Cin. A
 Temps de dosage/points de mesure 10 / 13-31
 Longueur d'ondes (sec/princ) 480/450 nm
 Sens de la réaction Croissant
 Unités U/L (µkat/L)

Pipetage des réactifs	Diluant (H ₂ O)	
R1	75 µL	25 µL
R2	17 µL	21 µL
Volumes échantillon	Echantillon	Dilution échantillon
		Echantillon Diluant (NaCl)
Normal	2.8 µL	- -
Diminué	2.8 µL	20 µL 80 µL
Augmenté	2.8 µL	- -

cobas c 501 Définition du test

Mode de mesure Cin. A
 Temps de dosage/points de mesure 10 / 19-48
 Longueur d'ondes (sec/princ) 480/450 nm
 Sens de la réaction Croissant
 Unités U/L (µkat/L)

Pipetage des réactifs	Diluant (H ₂ O)	
R1	75 µL	25 µL
R2	17 µL	21 µL
Volumes échantillon	Echantillon	Dilution échantillon
		Echantillon Diluant (NaCl)
Normal	2.8 µL	- -
Diminué	2.8 µL	20 µL 80 µL
Augmenté	2.8 µL	- -

cobas c 502 Définition du test

Mode de mesure Cin. A
 Temps de dosage/points de mesure 10 / 19-48
 Longueur d'ondes (sec/princ) 480/450 nm
 Sens de la réaction Croissant
 Unités U/L (µkat/L)

Pipetage des réactifs	Diluant (H ₂ O)	
R1	75 µL	25 µL
R2	17 µL	21 µL
Volumes échantillon	Echantillon	Dilution échantillon
		Echantillon Diluant (NaCl)
Normal	2.8 µL	- -
Diminué	2.8 µL	20 µL 80 µL
Augmenté	5.6 µL	- -

Calibration

Calibrateurs S1: H₂O
 S2: C.f.a.s.

Type calibration Linéaire

Fréquence des calibrations Calibration 2 points
 • à chaque nouveau lot de réactifs
 • si le contrôle de qualité l'exige

Traçabilité: La méthode a été standardisée manuellement par rapport à la formulation originale de l'IFCC⁶ (utilisation de pipettes calibrées et d'un photomètre manuel donnant des valeurs absolues, et calcul de l'activité enzymatique à l'aide du coefficient d'absorbance ε spécifique du substrat).

000333752190c501V8.0

ALP2

Alcaline Phosphatase acc. to IFCC Gen.2

cobas®**Contrôle de qualité**

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section « Références de commande ».

D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.

La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites définies.

Se conformer à la réglementation gouvernementale et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.

Calcul des résultats

Les systèmes Roche/Hitachi **cobas c** calculent automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon.

Facteur de conversion: U/L x 0.0167 = µkat/L

Limites d'utilisation - interférences

Critère d'acceptabilité: recouvrement ± 10 % par rapport à la valeur initiale à une activité de phosphatase alcaline de 100 U/L (1.67 µkat/L).

Ictère:⁸ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice I de 60 pour la bilirubine conjuguée et non conjuguée (concentration approximative en bilirubine conjuguée et non conjuguée: 1026 µmol/L ou 60 mg/dL).

Hémolyse:⁸ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 200 (concentration approximative d'hémoglobine: 124 µmol/L ou 200 mg/dL).

Lipémie (Intralipid):⁸ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice L de 2000. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre la turbidité (indice L) et la concentration en triglycérides.

Médicaments: Aucune interférence n'a été trouvée aux concentrations thérapeutiques dans un panel de médicaments fréquemment administrés.^{9, 10}

Dans de très rares cas, la gammopathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.¹¹

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

ACTION NÉCESSAIRE

Programmation de lavages spéciaux: Sur les analyseurs Roche/Hitachi **cobas c**, certaines combinaisons de tests nécessitent la programmation d'étapes de lavage spéciales. La dernière version de la liste de prévention des contaminations (Carry over evasion list) figure dans les fiches de méthodes NaOHD/SMS/Multiclean/SCCS ou NaOHD/SMS/SmpCln1+2/SCCS. Pour de plus amples instructions, se référer au manuel de l'utilisateur. Analyseur **cobas c 502**: Toutes les programmations de lavages spéciaux pour la prévention des contaminations se font via **cobas link**. Aucune entrée manuelle n'est nécessaire.

Le cas échéant, la programmation des lavages spéciaux/de prévention des contaminations doit être implémentée avant d'effectuer le rapport de ce test.

Limites et intervalles**Domaine de mesure**

5-1200 U/L (0.084-20.0 µkat/L)

Déterminer les échantillons ayant des activités plus élevées via la fonction Réanalyse. La dilution des échantillons déterminés par la fonction réanalyse est de 1/5. Les résultats des échantillons dilués pour la réanalyse sont automatiquement multipliés par le facteur 5.

Limites inférieures de mesure

Limite inférieure de détection du test

5 U/L (0.084 µkat/L)

La limite inférieure de détection correspond à la plus faible concentration mesurable en analyte pouvant être distinguée de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond à la valeur située 3 écarts-type au-dessus du taux le plus faible de la gamme de standards (standard 1 + 3s, répétabilité, n = 21).

Valeurs de référence

(mesure à 37 °C)

Adultes¹²

Hommes (n = 221) 40-129 U/L (0.67-2.15 µkat/L)

Femmes (n = 229) 35-104 U/L (0.58-1.74 µkat/L)

Valeurs consensuelles¹³

Hommes 40-130 U/L (0.67-2.17 µkat/L)

Femmes 35-105 U/L (0.58-1.75 µkat/L)

Enfants⁹

1 jour < 250 U/L (< 4.17 µkat/L)

de 2 à 5 jours < 231 U/L (< 3.84 µkat/L)

de 6 jours à 6 mois < 449 U/L (< 7.49 µkat/L)

de 7 mois à 1 an < 462 U/L (< 7.69 µkat/L)

de 1 à 3 ans < 281 U/L (< 4.67 µkat/L)

de 4 à 6 ans < 269 U/L (< 4.48 µkat/L)

de 7 à 12 ans < 300 U/L (< 5.00 µkat/L)

de 13 à 17 ans (f) < 187 U/L (< 3.11 µkat/L)

de 13 à 17 ans (m) < 390 U/L (< 6.51 µkat/L)

a) Valeurs calculées à partir des domaines de référence publiés pour la méthode ALP opt. DGKC (Société Allemande de Chimie Clinique)¹⁴, en utilisant le facteur 0.417 issu d'une comparaison de méthodes.

Les intervalles de référence pour la population pédiatrique n'ont pas été évalués par Roche.

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

Performances analytiques

Les performances analytiques indiquées ci-dessous sont représentatives. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La précision a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne: répétabilité (n = 21) et précision intermédiaire (3 aliquotes par série, 1 série par jour sur 21 jours). Les résultats suivants ont été obtenus:

Répétabilité	Moyenne	SD	CV
	U/L (µkat/L)	U/L (µkat/L)	%
Precinorm U	99.2 (1.65)	0.7 (0.01)	0.7
Precipath U	241 (4.02)	1 (0.02)	0.6
Sérum humain 1	54.6 (0.912)	0.5 (0.008)	0.9
Sérum humain 2	648 (10.8)	4 (0.1)	0.7
Précision intermédiaire	Moyenne	SD	CV
	U/L (µkat/L)	U/L (µkat/L)	%
Precinorm U	92.8 (1.56)	2.2 (0.04)	2.4
Precipath U	224 (3.74)	4 (0.06)	1.7
Sérum humain 3	82.2 (1.37)	1.8 (0.03)	2.1
Sérum humain 4	1025 (17.1)	9 (0.2)	0.9

Comparaison de méthodes

Les taux de phosphatase alcaline obtenus dans des échantillons de sérum et de plasma humains sur un analyseur Roche/Hitachi **cobas c 501 (y)** ont été comparés à ceux obtenus avec le réactif correspondant sur un analyseur Roche/Hitachi 917 (x).

n = 203

Passing/Bablok ¹⁵	Régression linéaire
y = 0.988x + 1.31 U/L	y = 0.991x + 0.799 U/L
τ = 0.961	r = 0.997

Les activités des échantillons étaient situées entre 50.0 et 1002 U/L (0.835 et 16.7 µkat/L).

000333752190c501V8.0

ALP2

Alkaline Phosphatase acc. to IFCC Gen.2

cobas®

Références bibliographiques

- 1 Greiling H, Gressner AM, eds. Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, 3rd ed. Stuttgart/New York: Schattauer Verlag 1995.
- 2 King EJ, Armstrong AR. Can Med Assoc J 1934;31:376
- 3 Ohmori Y. Über die Phosphomomesterase. Enzymologia 1937;4:217-231.
- 4 Bessey OA, Lowry OH, Brock MJ. A method for the rapid determination of alkaline phosphatase with five cubic millimeters of serum. J Biol Chem 1946;164:321-329.
- 5 Hausamen TU, Helger R, Rick W, et al. Optimal conditions for the determination of serum alkaline phosphatase by a new kinetic method. Clin Chim Acta 1967;15:241-245.
- 6 Tietz NW, Rinker AD, Shaw LM. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:731-748.
- 7 Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2.
- 8 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- 9 Breuer J. Report on the Symposium "Drug effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
- 10 Sonntag O, Scholer A. Drug interference in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
- 11 Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.
- 12 Abicht K, El-Samaliouti V, Junge W, et al. Multicenter evaluation of new GGT and ALP reagents with new reference standardization and determination of 37 °C reference intervals. Clin Chem Lab Med 2001;39:Special Supplement pp S 346.
- 13 Thomas L, Müller M, Schumann G, et al. Consensus of DGKL and VDGH for interim reference intervals on enzymes in serum. J Lab Med 2005;29:301-308.
- 14 Fischbach F, Zawta B. Age-dependent Reference Limits of Several Enzymes in Plasma at Different Measuring Temperatures. Klin Lab 1992;38:556-561.
- 15 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

Dans cette fiche technique, le séparateur décimal pour partager la partie décimale de la partie entière d'un nombre décimal est un point. Aucun séparateur de milliers n'est utilisé.

Symboles

Roche Diagnostics utilise les signes et les symboles suivants en plus de ceux de la norme ISO 15223-1.

CONTENT	Contenu du coffret
---------	--------------------



Volume après reconstitution ou homogénéisation

Les modifications importantes par rapport à la version précédente sont signalées par une barre verticale dans la marge.

© 2013, Roche Diagnostics



Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

Assemblé et distribué par:
Roche Diagnostics, Indianapolis, Service clientèle IN
USA 1-800-428-2336



Annexe 4 : Fiche technique du kit de dosage de l'urée

0104460715190COINV6.0

UREAL

Urea/BUN

Références de commande

REF	CONTENT		cobas c pack(s) utilisable(s) sur les analyseurs suivants
04460715 190	Urea/BUN (500 tests)	System-ID 07 6303 9	COBAS INTEGRA 400 plus COBAS INTEGRA 800
10759350 190	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL)	System-ID 07 3718 6	
10759350 360	Calibrator f.a.s. (12 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 3718 6	
12149435 122	Precinorm U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 7999 7	
12149435 160	Precinorm U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 7999 7	
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL)	System-ID 07 8000 6	
12149443 122	Precipath U plus (10 x 3 mL, pour les USA)	System-ID 07 8000 6	
10171743 122	Precinorm U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0	
10171735 122	Precinorm U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7997 0	
10171778 122	Precipath U (20 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9	
10171760 122	Precipath U (4 x 5 mL)	System-ID 07 7998 9	
05117003 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3	
05947626 190	PreciControl ClinChem Multi 1 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7469 3	
05117216 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (20 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7	
05947774 190	PreciControl ClinChem Multi 2 (4 x 5 mL)	System-ID 07 7470 7	

cobas[®]
Substrats

Français

Informations techniques

Test UREL, test ID 0-003 pour le sérum et le plasma

Test URELU, test ID 0-004 pour l'urine

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative de l'urée et de l'azote uréique dans des échantillons de sérum, de plasma et d'urine humains sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

Caractéristiques¹

L'urée est le principal produit final du métabolisme azoté des protéines. Elle est synthétisée par le cycle de l'urée dans le foie à partir de l'ammoniac qui est produit par la désamination des acides aminés. L'urée est principalement excrétée par les reins mais des quantités minimales sont également excrétées dans la sueur et dégradées au niveau intestinal sous l'action de bactéries.

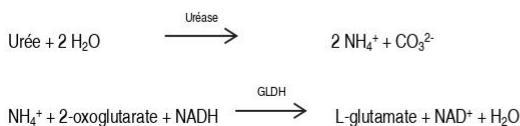
La détermination de l'azote uréique sanguin est la méthode la plus largement utilisée pour l'exploration de la fonction rénale. Utilisée conjointement aux déterminations de créatinine sérique, elle peut être une aide pour le diagnostic différentiel de trois types d'azotémies: pré-rénale, rénale et post-rénale.

On observe une augmentation de la concentration d'azote uréique dans le sang lors de dialyse non adéquate, de choc, de volume sanguin diminué (causes pré-rénales), de néphrite chronique, de néphrosclérose, de nécrose tubulaire, de glomérulonéphrite (causes rénales) et d'obstruction des voies urinaires (causes post-rénales). Des augmentations transitoires peuvent également être observées lors de périodes où l'apport protéique est élevé. Des taux inattendus apparaissent lors de troubles hépatiques.

Principe

Test cinétique utilisant l'uréase et la glutamate déshydrogénase^{2,3,4,5}

Sous l'action de l'uréase, l'urée est hydrolysée en ammoniac et carbonate. Lors d'une seconde réaction, le 2-oxoglutarate réagit avec l'ammoniac en présence de glutamate déshydrogénase (GLDH) et de la coenzyme NADH pour former du L-glutamate. Dans cette réaction, deux moles de NADH sont oxydées en NAD⁺ pour chaque mole d'urée hydrolysée.



La vitesse de diminution du NADH est directement proportionnelle à la concentration en urée de l'échantillon. Elle est déterminée en mesurant l'absorbance à 340 nm.

Réactifs - composition et concentrations

R1 Tampon TRIS: 220 mmol/L; 2-oxoglutarate: 73 mmol/L; NADH: 2.5 mmol/L; ADP: 6.5 mmol/L; uréase (de Canavalia ensiformis): ≥ 300 µkat/L; GLDH (bovin): ≥ 80 µkat/L; stabilisateurs; pH 8.6

R1 est en position B.

Précautions d'emploi et mises en garde

Observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde indiquée dans le Chapitre 1 / Introduction du présent Recueil de méthodologies.

Préparation des réactifs

Prêt à l'emploi.

Conservation et stabilité

Avant ouverture, entre 2 et 8 °C
Voir date de péremption sur l'étiquette du **cobas c** pack

Analyseur COBAS INTEGRA 400 plus
Sur l'analyseur, entre 10 et 15 °C
8 semaines

Analyseur COBAS INTEGRA 800
Sur l'analyseur, à 8 °C
8 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés.

Sérum

Plasma: sang total recueilli sur héparinate de lithium, EDTA ou fluorure. Ne pas utiliser d'héparinate d'ammonium.

Urine: Une croissance bactérienne dans l'échantillon ainsi qu'une concentration d'azote atmosphérique élevée et une contamination par des ions ammonium peuvent conduire à l'obtention de résultats faussement élevés.

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test: les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

0104460715190COINV6.0

UREAL

Urea/BUN

cobas[®]
Substrats

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Stabilité dans le <i>sérum/plasma</i> . ⁶	7 jours entre 15 et 25 °C
	7 jours entre 2 et 8 °C
	1 an entre -15 et -25 °C
Stabilité dans l' <i>urine</i> . ⁶	2 jours entre 15 et 25 °C
	7 jours entre 2 et 8 °C
	1 mois entre -15 et -25 °C

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans le présent document. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Application pour le sérum, le plasma et l'urine**COBAS INTEGRA 400 plus Définition du test**

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Sens de la réaction	Décroissant
Longueur d'onde A/B	340/409 nm
Calc. premier/dernier	23/28
Unité	mmol/L

Sérum, plasma

Mode réactionnel R-S

Urine

Mode réactionnel D-R-S
Facteur de prédilution 50

Paramètres de pipetage

<i>Sérum/plasma/urine</i>		Diluant (H ₂ O)
R	50 µL	95 µL
Echantillon	2 µL	98 µL
Volume total	245 µL	

COBAS INTEGRA 800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Cinétique
Sens de la réaction	Décroissant
Longueur d'onde A/B	340/409 nm
Calc. premier/dernier	27/36
Unité	mmol/L

Sérum, plasma

Mode réactionnel R-S

Urine

Mode réactionnel D-R-S
Facteur de prédilution 50

Paramètres de pipetage

<i>Sérum/plasma/urine</i>		Diluant (H ₂ O)
R	50 µL	150 µL
Echantillon	2 µL	43 µL

Volume total	245 µL
Calibration	
Calibrateur	Calibrator f.a.s. Utiliser de l'eau désionisée pour le calibrateur zéro.
Type calibration	Régression linéaire
Nombre de répliques	Duplication recommandée
Fréquence des calibrations	A chaque cobas c pack, toutes les 4 semaines et si le contrôle de qualité l'exige

Traçabilité: La méthode a été standardisée par rapport à la DI/SM.

Contrôle de qualité

Sérum, plasma	Precinorm U, Precinorm U plus ou PreciControl ClinChem Multi 1 Precipath U, Precipath U plus ou PreciControl ClinChem Multi 2
Urine	Pour le contrôle de qualité de routine, utiliser de préférence des contrôles urinaires quantitatifs.
Fréquence des contrôles	24 heures recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section « Références de commande ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.

La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies. Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites définies.

Se conformer à la réglementation gouvernementale et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour les analyseurs COBAS INTEGRA 400 plus/800).

Facteurs de conversion:

$\text{mmol d'urée/L} \times 6.006 = \text{mg d'urée/dL}$
$\text{mmol d'urée/L} \times 2.801 = \text{mg d'azote uréique/dL}$
$\text{mmol d'urée/L} = \text{mmol d'azote uréique/L}$
$\text{mg d'urée/dL} \times 0.167 = \text{mmol d'urée/L}$
$\text{mg d'urée/dL} \times 0.467 = \text{mg d'azote uréique/dL}$
$\text{mg d'urée/dL} \times 0.167 = \text{mmol d'azote uréique/L}$

Limites d'utilisation - interférences

Critère d'acceptabilité: Recouvrement $\pm 10\%$ par rapport à la valeur initiale.

Sérum/plasma

Ictère:⁷ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice I de 60 pour la bilirubine conjuguée et non conjuguée (concentration approximative en bilirubine conjuguée et non conjuguée: 1026 µmol/L ou 60 mg/dL).

Hémolyse:⁷ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 1000 (concentration approximative d'hémoglobine: 621 µmol/L ou 1000 mg/dL). Les échantillons hémolytiques peuvent être à l'origine d'une alarme signalant une absorbance trop élevée. Sélectionner la réanalyse automatique après dilution de l'échantillon.

Lipémie (Intralipid):⁷ Pas d'interférence significative jusqu'à un indice L de 2000. Il n'y a pas de concordance satisfaisante entre l'indice de turbidité L et la concentration en triglycérides.

Les échantillons lipémiques peuvent être à l'origine d'une alarme signalant une absorbance trop élevée. Sélectionner la réanalyse automatique après dilution de l'échantillon.

0104460715190COINV6.0

UREAL

Urea/BUN



Substrats

Anticoagulants: Ne pas utiliser d'héparinate d'ammonium comme anticoagulant.

Les interférences médicamenteuses ont été testées selon les recommandations du VDGH.^{a)} Aucune interférence avec le test n'a été observée.

Les ions ammonium peuvent induire des résultats faussement élevés.

Dans de très rares cas, la gammopathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.^{b)}

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

a) Verband der Diagnostica und Diagnostica Geräte Hersteller. Une liste des médicaments testés avec leur concentration figure dans le Manuel de méthodes, section A.

ACTION NÉCESSAIRE

Programmation de lavages spéciaux: Sur les analyseurs COBAS INTEGRA, certaines combinaisons de tests nécessitent la programmation d'étapes de lavage spéciales. Pour de plus amples informations, se référer à la fiche technique CLEAN et la dernière version de la liste des cycles de lavage spéciaux (EWC).

Le cas échéant, des lavages spéciaux/de prévention des contaminations doivent être implémentés avant d'établir un rapport avec ce test.

Limites et intervalles

Domaine de mesure

Sérum/plasma

0.5-40 mmol/L (urée 3.0-240 mg/dL, azote uréique 1.4-112 mg/dL)

Déterminer les échantillons ayant des concentrations plus élevées via la fonction Réanalyse. La dilution des échantillons déterminés par la fonction réanalyse est de 1/10. Les résultats des échantillons dilués pour la réanalyse sont automatiquement multipliés par le facteur 10.

Urine

1.0-2000 mmol/L (urée 0.006-12 g/dL, azote uréique 2.8-5600 mg/dL)

Déterminer les échantillons ayant des concentrations plus élevées via la fonction Réanalyse. La dilution des échantillons déterminés par la fonction réanalyse est de 1/3. Les résultats des échantillons dilués pour la réanalyse sont automatiquement multipliés par le facteur 3.

Déterminer les échantillons ayant des concentrations plus basses via la fonction Réanalyse. Pour les échantillons dont les concentrations sont inférieures à 40 mmol/L, la fonction Réanalyse réduit le facteur de pré-dilution de l'échantillon à 2 (dilution finale 1 + 1 sur les analyseurs COBAS INTEGRA 400 plus) ou à 1 (aucune dilution sur les analyseurs COBAS INTEGRA 800). Les résultats sont automatiquement multipliés par le facteur de pré-dilution réduit.

Limites inférieures de mesure

Sérum/plasma

Limite inférieure de détection du test:

0.5 mmol/L (urée 3.0 mg/dL, azote uréique 1.4 mg/dL)

La limite inférieure de détection correspond à la plus faible concentration mesurable en analyte pouvant être distinguée de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au triple de l'écart-type du standard zéro (standard zéro + 3s, répétabilité, n = 30).

Urine

Limite inférieure de détection du test:

1.0 mmol/L (urée 0.006 g/dL, azote uréique 2.8 mg/dL)

La limite inférieure de détection correspond à la plus faible concentration mesurable en analyte pouvant être distinguée de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au triple de l'écart-type du standard zéro (standard zéro + 3s, répétabilité, n = 30).

Valeurs de référence

Urée

Sérum, plasma^{a)}

Adultes 2.76-8.07 mmol/L (16.6-48.5 mg/dL)

Urine¹⁰⁾

Urines de 24 heures 428-714 mmol/24 h (25.7-42.9 g/24 h),
soit
286-595 mmol/L (1.71-3.57 g/dL)^{b)}

b) Sur la base d'un volume d'urine moyen compris entre 1.2 et 1.5 L/24 h.

Azote uréique (BUN)

Sérum/plasma¹⁰⁾

Adulte (18 à 60 ans)	2.14-7.14 mmol/L	(6-20 mg/dL)
Adulte (60 à 90 ans)	2.86-8.21 mmol/L	(8-23 mg/dL)
Nourrisson (< 1 an)	1.43-6.78 mmol/L	(4-19 mg/dL)
Nourrisson/enfant	1.79-6.43 mmol/L	(5-18 mg/dL)

Urine¹⁰⁾

Urines de 24 heures 428-714 mmol/24 h (12-20 g/24 h),
soit
286-595 mmol/L (801-1666 mg/dL)^{c)}

c) Sur la base d'un volume d'urine moyen compris entre 1.2 et 1.5 L/24 h.

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

Performances analytiques

Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec des analyseurs COBAS INTEGRA. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La précision a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne: répétabilité et précision intermédiaire (2 aliquotes par série, 2 séries par jour sur 20 jours). Les résultats suivants ont été obtenus:

Sérum/plasma

	Niveau 1	Niveau 2
Moyenne	4.08 mmol/L (24.6 mg/dL)	31.0 mmol/L (186 mg/dL)
CV répétabilité	2.3%	0.9%
CV précision intermédiaire	3.9%	2.8%

Urine

	Niveau 1	Niveau 2
Moyenne	421 mmol/L (2.53 g/dL)	679 mmol/L (4.08 g/dL)
CV répétabilité	1.3%	1.2%
CV précision intermédiaire	1.8%	1.8%

Comparaison de méthodes

Sérum/plasma

Les concentrations en urée dans le sérum et le plasma humains obtenues avec le réactif COBAS INTEGRA Urea/BUN sur l'analyseur COBAS INTEGRA 700 (y) ont été comparées avec celles déterminées avec des réactifs pour l'urée du commerce sur l'analyseur COBAS INTEGRA 700 (x) et un analyseur de chimie clinique d'un autre fabricant (z). Les échantillons ont été déterminés en double. La taille de l'échantillon (n) correspond à l'ensemble des répliques.

Analyseur COBAS INTEGRA 700

Taille de l'échantillon (n)	236
Coeff. de corrélation (r)	0.999
(r _s)	0.999
Régression linéaire	y = 1.004x + 0.071 mmol/L
Passing/Bablok ¹¹⁾	y = 1.001x + 0.014 mmol/L

0104460715190COINV6.0

UREAL

Urea/BUN

Autre analyseur

Taille de l'échantillon (n) 236

Coeff. de corrélation (r) 0.999
(r_s) 0.999Régression linéaire $y = 0.983x + 0.176$ mmol/LPassing/Bablok¹¹ $y = 0.995x + 0.041$ mmol/L

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 1.1 et 38.1 mmol/L (6.61 et 229 mg/dL).

Urine

Les concentrations en urée dans l'urine humaine obtenues sur l'analyseur COBAS INTEGRA 700 avec le réactif COBAS INTEGRA Urea/BUN (y) ont été comparées à celles obtenues avec un test de détermination de l'urée du commerce sur l'analyseur COBAS INTEGRA 700 (x).

Analyseur COBAS INTEGRA 700

Taille de l'échantillon (n) 120

Coeff. de corrélation (r) 0.999
(r_s) 0.998Régression linéaire $y = 1.000x + 1.30$ mmol/LPassing/Bablok¹¹ $y = 0.999x + 3.47$ mmol/L

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 56.6 et 796 mmol/L (0.340 et 4.78 g/dL).

Références bibliographiques

- 1 Rock RC, Walker WG, Jennings CD. Nitrogen metabolites and renal function. In: Tietz NW, ed. *Fundamentals of Clinical Chemistry*. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1987;669-704.
- 2 Richterich R, Colombo JP. *Klinische Chemie*. 4th ed. Basel: Karger S 1978;319-324.
- 3 Talke H, Schubert GA. Enzymatische Harnstoffbestimmung in Blut und Serum im optischen Test nach Warburg. *Klin Wochenschr* 1965;43:174.
- 4 Tiffany TO, Jansen JM, Burtis CA, et al. Enzymatic kinetic rate and end-point analyses of substrate, by use of a GeMSAEC Fast Analyzer. *Clin Chem* 1972;18:829-840.
- 5 Sampson EJ, Baird MA, Burtis CA, et al. A coupled-enzyme equilibrium method for measuring urea in serum: Optimization and evaluation of the AACC study group on urea candidate reference method. *Clin Chem* 1980;26:816-826.
- 6 Guder WG, Narayanan S, Wisser H, et al. List of Analytes; Preanalytical Variables. Brochure in: *Samples: From the Patient to the Laboratory*. Darmstadt: GIT-Verlag 1996.
- 7 Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. *Clin Chem* 1986;32:470-475.
- 8 Bakker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. *Clin Chem Lab Med* 2007;45(9):1240-1243.
- 9 Lohr B, El-Samalouti V, Junge W, et al. Reference Range Study for Various Parameters on Roche Clinical Chemistry Analyzers. *Clin Lab* 2009;55:465-471.
- 10 Wu AHB, ed. *Tietz Clinical Guide to Laboratory Tests*, 4th edition. St. Louis (MO): Saunders Elsevier 2006;1096.
- 11 Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry. Part III. *J Clin Chem Clin Biochem* 1988 Nov;26(11):783-790.

Dans cette fiche technique, le séparateur décimal pour partager la partie décimale de la partie entière d'un nombre décimal est un point. Aucun séparateur de milliers n'est utilisé.

cobas[®]
Substrats
Symboles

Roche Diagnostics utilise les signes et les symboles suivants en plus de ceux de la norme ISO 15223-1.

CONTENT

Contenu du coffret



Volume après reconstitution ou homogénéisation

GTIN

Code article international (GTIN)

Les modifications importantes par rapport à la version précédente sont signalées par une barre verticale dans la marge.

© 2014, Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-68305 Mannheim
www.roche.com

Annexe 5 : Fiche technique du kit des protéines totales

COBAS
INTEGRA 400/800



Total Protein Gen.2

Protéines totales, 2^{ème} génération

Références de commande

COBAS INTEGRA Total Protein Gen.2	300 tests	Réf. 03183734 190 System-ID 07 6827 8
Calibrator f.a.s.	12 × 3 mL	Réf. 10759350 190
Calibrator f.a.s. (pour les USA)	12 × 3 mL	Réf. 10759350 360 System-ID 07 3718 6
Precinorm U	20 × 5 mL	Réf. 10171743 122 System-ID 07 7997 0
Precipath U	20 × 5 mL	Réf. 10171778 122 System-ID 07 7998 9
Precinorm U plus	10 × 3 mL	Réf. 12149435 122
Precinorm U plus (pour les USA)	10 × 3 mL	Réf. 12149435 160 System-ID 07 7999 7
Precipath U plus	10 × 3 mL	Réf. 12149443 122
Precipath U plus (pour les USA)	10 × 3 mL	Réf. 12149443 160 System-ID 07 8000 6
Precinorm Protein	3 × 1 mL	Réf. 10557897 122
Precinorm Protein (pour les USA)	3 × 1 mL	Réf. 10557897 160 System-ID 07 9105 9
Precipath Protein	3 × 1 mL	Réf. 11333127 122
Precipath Protein (pour les USA)	3 × 1 mL	Réf. 11333127 160 System-ID 07 9106 7
PreciControl ClinChem Multi 1	20 × 5 mL	Réf. 05117003 190
PreciControl ClinChem Multi 1 (pour les USA)	4 × 5 mL	Réf. 05947626 160 System-ID 07 7469 3
PreciControl ClinChem Multi 2	20 × 5 mL	Réf. 05117216 190
PreciControl ClinChem Multi 2 (pour les USA)	4 × 5 mL	Réf. 05947774 160 System-ID 07 7470 7

● cobas c pack utilisable sur les analyseurs suivants:

COBAS INTEGRA 400/400 plus	COBAS INTEGRA 800
●	●

Informations techniques

COBAS INTEGRA Total Protein Gen.2 (TP2)
Test TP2, test ID 0-027

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative des protéines totales dans le sérum et le plasma sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

Caractéristiques¹

Les protéines plasmatiques sont principalement synthétisées dans le foie, les cellules sanguines, les ganglions lymphatiques, la rate et la moelle osseuse. Lors de maladie aussi bien la concentration en protéines totales que la proportion respective des différentes fractions protéiques peuvent considérablement s'écarter de la normale. Une hypoprotéinémie peut être due à des maladies ou à des troubles tels que le syndrome néphrotique, une perte de sang importante, la sprue (trouble de l'absorption des protéines), des brûlures graves, des syndromes de rétention sodée et le kwashiorkor (déficit aigu en protéines).

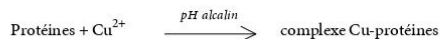
Une hyperprotéinémie peut être observée en cas de déshydratation importante et de maladies comme le myélome multiple. Des modifications dans les proportions des différentes protéines plasmatiques peuvent être dues à une seule fraction protéique.

Dans ce cas, la concentration en protéines totales n'est pas modifiée. On utilise souvent le rapport albumine/globulines comme index de la répartition des fractions albumine et globulines. Des modifications importantes de ce rapport se rencontrent en cas de cirrhose du foie, de glomérulonéphrite, de syndrome néphrotique, d'hépatite aiguë, de lupus érythémateux ainsi que de certaines affections inflammatoires aiguës ou chroniques. Les dosages de protéines totales sont utilisés dans le diagnostic et le suivi d'une série de maladies du foie, des reins et de la moelle osseuse ainsi que d'autres maladies métaboliques ou nutritionnelles.

Principe²

Test colorimétrique

Les ions cuivriques réagissent en solution alcaline avec les liaisons peptidiques des protéines avec formation d'un complexe violet caractéristique. Le tartare de potassium et de sodium empêchent la précipitation de l'hydroxyde de cuivre et l'iodure de potassium empêche l'autoxydation du cuivre.



COBAS

INTEGRA 400/800

Substrats

L'intensité de la couleur est directement proportionnelle à la concentration en protéines. Elle est déterminée en mesurant l'augmentation de l'absorbance à 552 nm.

Réactifs - composition et concentrations

Composants	Concentrations		
	R1	SR	Test
Hydroxyde de sodium	400	400	321 mmol/L
Tartrate de potassium et de sodium	89	89	71 mmol/L
Iodure de potassium	61	13	mmol/L
Sulfate de cuivre	24.3	5	mmol/L
pH	13.4	13.2	13.3

R1 est en position B et SR est en position C.

Précautions d'emploi et mises en garde

Observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde indiquées dans le Chapitre 1/ Introduction du présent Recueil de méthodologies.

Ce coffret contient les substances suivantes classées selon la directive européenne 1999/45/CE:



R1 et R2 contiennent de l'hydroxyde de sodium. Corrosif

R 35	Provoque des brûlures.
S 26	En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un médecin.
S 36/37/39	Porter un vêtement de protection approprié, des gants et un appareil de protection des yeux/du visage.
S 45	En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette).

Contact tél.: tous pays: +49-621-7590,
USA: +1-800-428-2336

Préparation des réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Conservation et stabilité

Avant ouverture entre 15 et 25 °C Voir date de péremption sur l'étiquette du cobas c pack.

Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus
Sur l'analyseur, entre 10 et 15 °C 4 semaines

Analyseur COBAS INTEGRA 800
Sur l'analyseur, à 8 °C 4 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés:

Sérum
Plasma recueilli sur héparinate de lithium ou EDTA tripotassique.

La concentration en protéines totales d'un échantillon prélevé chez un patient en position allongée est de 0,4 à 0,8 g/dL plus faible à celle d'un échantillon prélevé chez un patient en station debout.³

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test: les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Dans de rares cas, les tubes primaires de plasma hépariné, même manipulés correctement, peuvent contenir des agrégats de cellules conduisant, à 659 nm (longueur d'onde secondaire), à une augmentation spécifique de l'absorption et, de ce fait, à l'obtention de résultats faussement bas. L'interférence peut être évitée en transférant le surnageant de l'échantillon dans un tube secondaire ou, s'il s'agit d'un tube contenant un gel, en mélangeant soigneusement l'échantillon par retournements successifs du tube avant l'analyse.

Stabilité:^{4,5,6} 1 mois entre 2 et 8 °C
6 mois entre -15 et -25 °C

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse.

Matériel fourni

Voir paragraphe « Réactifs - composition et concentrations ».

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Application pour le sérum et le plasma

Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	552/659 nm
Calc. premier/dernier	33/52
Unité	g/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	90 µL	0 µL
Echantillon	2 µL	28 µL
SR	32 µL	0 µL
Volume total	152 µL	

COBAS INTEGRA 800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A/B	552/659 nm
Calc. premier/dernier	44/78
Unité	g/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	90 µL	0 µL
Echantillon	2 µL	28 µL
SR	32 µL	0 µL
Volume total	152 µL	

Calibration

Calibrateur	Calibrateur fa.s. Utiliser de l'eau déionisée pour le calibrateur zéro.
Type calibration	Régression linéaire
Calibration, réplique	Duplication recommandée
Fréquence des calibrations	A chaque lot et si le contrôle de qualité l'exige

Traçabilité: la méthode a été standardisée par rapport au SRM 927.

Contrôle de qualité

Valeurs de référence	Precinorm U, Precinorm U plus, Precinorm Protein ou PreciControl ClinChem Multi 1
Limites pathologiques	Precipath U, Precipath U plus, Precipath Protein ou PreciControl ClinChem Multi 2
Fréquence des contrôles	24 h recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section « Références de commande ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.

La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies.

Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites définies.

Se conformer à la réglementation gouvernementale et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour les analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

Facteur de conversion: $\text{g/L} \times 0.1 = \text{g/dL}$

Limites d'utilisation - interférences

Critère d'acceptabilité: Recouvrement $\pm 10\%$ de la valeur initiale.

Sérum, plasma

Ictère ⁷	Pas d'interférence significative.
Hémolyse ⁷	pas d'interférence significative jusqu'à un indice H de 500 (concentration approximative d'hémoglobine: 310 $\mu\text{mol/L}$ ou 500 mg/dL).
Lipémie ⁷	Pas d'interférence significative.
Dextran	Pas d'interférence significative jusqu'à 30 mg/mL.
Médicaments	Aucune interférence n'a été trouvée aux concentrations thérapeutiques dans un panel de médicaments fréquemment administrés. ^{5,9}
Autres	Un faible taux de récupération peut être dû à la formation d'agrégats de cellules dans certains échantillons de plasma hépariné. Dans de très rares cas, la gammopathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés.

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

ACTION NÉCESSAIRE

Programmation de séquences de lavages spéciaux: sur les analyseurs COBAS INTEGRA, certaines combinaisons de tests nécessitent la programmation d'étapes de lavage spéciales. Pour plus d'informations, se référer au Recueil de Méthodologies, Introduction, Cycles de lavage supplémentaires.

Le cas échéant, la programmation des lavages spéciaux/de prévention des contaminations doit être implémentée avant d'effectuer le rapport de ce test.

Limites et intervalles**Domaine de mesure**

2-120 g/L (0.2-12 g/dL)

Déterminer les échantillons ayant des concentrations plus élevées via la fonction Réanalyse. La dilution des échantillons déterminés par la fonction réanalyse est de 1/5. Les résultats des échantillons dilués pour la réanalyse sont automatiquement multipliés par le facteur 5.

Limites inférieures de mesure

Limite inférieure de détection du test:

2 g/L (0.2 g/dL)

La limite inférieure de détection correspond à la plus faible concentration mesurable en analyte pouvant être distinguée de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au triple de l'écart-type du standard zéro (standard zéro + 3SD, répétabilité, n = 30).

Valeurs de référence

Valeurs de référence selon Josephson¹⁰

Adultes 6.6-8.7 g/dL (66-87 g/L)

Valeurs de référence selon Tietz¹¹

Cordon ombilical 4.8-8.0 g/dL

Prématurés 3.6-6.0 g/dL

Nouveau-nés 4.6-7.0 g/dL

1 semaine 4.4-7.6 g/dL

de 7 mois à 1 an 5.1-7.3 g/dL

1 à 2 ans 5.6-7.5 g/dL

> 3 ans 6.0-8.0 g/dL

Adultes (en ambulatoire) 6.4-8.3 g/dL

Les intervalles de référence pour la population pédiatrique n'ont pas été évalués par Roche.

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

Performances analytiques

Les performances analytiques indiquées ci-dessous sont représentatives. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La précision a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne: répétabilité^a (n = 21) et précision intermédiaire^b (1 aliquote par série, 1 série par jour sur 21 jours). Les résultats suivants ont été obtenus:

Echantillon	Répétabilité ^a			Précision intermédiaire ^b		
	Moyenne	SD	CV	Moyenne	SD	CV
	g/L	g/L	%	g/L	g/L	%
Sérum humain 1	70.1	0.8	1.1	65.4	1.4	2.2
Sérum humain 2	84.2	0.4	0.5	92.0	1.4	1.5
Precinorm U	48.0	0.2	0.5	52.6	0.5	1.0
Precipath U	51.7	0.3	0.5	51.2	0.9	1.7

a) Répétabilité = précision intra-série

b) Précision intermédiaire = précision totale/précision inter-séries/précision inter-jours

Comparaison de méthodes

Les taux de protéines totales dans le sérum humain obtenus avec le réactif COBAS INTEGRA Total Protein Gen.2 sur un analyseur COBAS INTEGRA 700 (y) ont été comparés à ceux déterminés avec le réactif correspondant sur un analyseur Roche/Hitachi 917 (x) et avec le réactif précédent (TP) sur un analyseur COBAS INTEGRA 700 (x).

Analyseur Roche/Hitachi 917	n = 114
Passing/Bablok ¹²	Régression linéaire
$y = 0.979x + 0.249$ g/L	$y = 0.978x + 0.452$ g/L
$\tau = 0.947$	$r = 0.998$
SD (md 95) = 1.54	Sy.x = 0.732

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 32 et 100 g/L (3.2 et 10.0 g/dL).

Analyseur COBAS INTEGRA 700	n = 60
Passing/Bablok ¹²	Régression linéaire
$y = 1.033x - 0.541$ g/L	$y = 1.031x - 0.372$ g/L
$\tau = 0.972$	$r = 0.999$
SD (md 95) = 0.984	Sy.x = 0.467

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 24 et 113 g/L (2.4 et 11.3 g/dL).

Références bibliographiques

1. Brobeck JR. Physiological Basis of Medical Practice. 9th ed. Baltimore, MD: Wilkins and Wilkins 1973:4-7.
2. Weichselbaum TE. Amer J Clin Path 1946;16:40.
3. Koller A. Total serum protein. Dans: Kaplan LA, Pesce AJ, eds. Clinical Chemistry, theory, analysis, and correlation. St. Louis: Mosby Company 1984:1316-1319.
4. Burtis CA, Ashwood ER, Burns, DE, editors. Tietz Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics, 4th ed. Elsevier Saunders, St. Louis, 2006:587.
5. Burtis CA, Ashwood ER (éditeurs). Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry, 5^e édition. WB Saunders Company, 2001:349.
6. Thomas L. Labor und Diagnose, 6th ed. TH-Books, Frankfurt, 2005:933.
7. Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
8. Breuer J. Report on the Symposium "Drug Effects in Clinical Chemistry Methods". Eur J Clin Chem Clin Biochem 1996;34:385-386.
9. Sonntag O, Scholer A. Drug interferences in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
10. Josephson B, Gyllenswärd C. The Development of the Protein Fractions and of Cholesterol Concentration in the Serum of Normal Infants and Children. Scand J Clin Lab Investigation 1957;9:29.
11. Tietz NW, éd. Clinical Guide to Laboratory Tests, 3^e édition. Philadelphie, PA: WB Saunders Company 1995:518-522.
12. Passing H, Bablok W, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

Dans cette fiche technique, le séparateur décimal pour partager la partie décimale de la partie entière d'un nombre décimal est un point. Aucun séparateur de milliers n'est utilisé.

Les modifications importantes par rapport à la version précédente sont signalées par une barre verticale dans la marge.
© 2012, Roche Diagnostics

 Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-60305 Mannheim
www.roche.com



Annexe 6 : Fiche technique du kit des protéines salivaires

COBAS
INTEGRA 400/800



Total Protein Urine/CSF Gen.3

Protéines totales Urine/LCR, 3^{ème} génération

Références de commande

COBAS INTEGRA	150 tests	Réf. 03333825 190
Total Protein Urine/CSF Gen.3		System-ID 07 6763 8
C.f.a.s. PUC	5 × 1 mL	Réf. 03121305 122
		System-ID 07 6755 7
Precinorm PUC	4 × 3 mL	Réf. 03121313 122
		System-ID 07 6756 5
Precipath PUC	4 × 3 mL	Réf. 03121291 122
		System-ID 07 6757 3
NaCl Diluent 9 %	6 × 22 mL	Réf. 20756350 322
		System-ID 07 5635 0

● cobas c pack utilisable sur les analyseurs suivants:

COBAS INTEGRA 400/400 plus	COBAS INTEGRA 800
●	●

Informations techniques

COBAS INTEGRA Total Protein Urine/CSF Gen.3 (TPUC3)
Test TPU3, test ID 0-163 (urine)
Test TPC3, test ID 0-263 (LCR)

Domaine d'utilisation

Test in vitro pour la détermination quantitative des protéines totales dans les échantillons d'urine et de liquide céphalo-rachidien (LCR) humains sur les analyseurs COBAS INTEGRA.

Caractéristiques

Le dosage des protéines dans l'urine est indiqué pour le diagnostic et le traitement d'affections comme les maladies rénales ou cardiaques, ou les troubles fonctionnels de la thyroïde qui sont caractérisés par une protéinurie ou une albuminurie.

Le dosage des protéines dans le LCR est indiqué pour le diagnostic et le traitement d'affections telles que les méningites, les tumeurs cérébrales et les infections touchant le système nerveux central.¹

L'urine est formée par ultrafiltration du plasma à travers la membrane basale glomérulaire. Les protéines de poids moléculaire > 40000 sont presque entièrement retenues; les molécules plus petites passent facilement dans le filtrat glomérulaire. La plus grande partie des protéines du LCR sont issues du plasma par diffusion à travers la barrière hémato-encéphalique. Une augmentation des taux de protéines du LCR provient d'une perméabilité accrue de la barrière hémato-encéphalique ou d'une synthèse locale accrue des immunoglobulines.

Les méthodes turbidimétriques précipitent les protéines de l'échantillon par l'acide trichloracétique ou l'acide sulfosalicylique en fonction de leur taille. La turbidité peut être instable et présenter une tendance à la floculation. Les réactifs utilisés dans les méthodes colorimétriques (méthode au bleu de Coomassie ou au complexe rouge de pyrogallol-molybdate) réagissent avec les protéines en fonction de la composition des acides aminés mais peuvent adhérer à la paroi de tubes en plastique ou en verre. En raison des mécanismes de leur réaction, toutes les méthodes turbidimétriques et colorimétriques présentent des sensibilités différentes vis-à-vis de nombreux types de protéines, et particulièrement vis-à-vis des fragments de protéines tels que les protéines de Bence Jones² et les petites protéines telles que l' α 1-microglobuline.

Le test Total Protein Urine/CSF Gen.3 de Roche Diagnostics repose sur la méthode d'Iwata et Nishikaze³, modifiée par Luxton, Patel, Keir et Thompson.⁴ Dans cette méthode les protéines sont

précipitées par le chlorure de benzéthonium en milieu alcalin. La turbidité qui en résulte est plus stable et plus uniforme que celle obtenue après précipitation par l'acide trichloracétique ou l'acide sulfosalicylique. Le test montre un taux de recouvrement des gammaglobulines d'environ 30 % inférieur à celui de l'albumine⁵. L'addition d'EDTA élimine l'interférence par les ions magnésium.

Principe

Méthode turbidimétrique

L'échantillon est pré-incubé dans une solution alcaline contenant de l'EDTA qui dénature les protéines et élimine l'interférence des ions magnésium. Après addition de chlorure de benzéthonium, il se produit une turbidité qui est mesurée à 512 nm.

Réactifs - composition et concentrations

Composants	Concentrations		
	R1	SR	Test
Hydroxyde de sodium	677	410	mmol/L
EDTA sodique	74	44.8	mmol/L
Chlorure de benzéthonium	32	7.75	mmol/L

R1 est en position B et SR est en position C.

Précautions d'emploi et mises en garde

Observer toutes les précautions d'emploi et mises en garde indiquées dans le Chapitre 1/ Introduction du présent Recueil de méthodologies.

Ce coffret contient des substances classées de la manière suivante selon la Directive Européenne 1999/45/CE:



R1 contient de l'hydroxyde de sodium.
Corrosif

R 34

Provoque des brûlures.

S 26-37/39-45

En cas de contact avec les yeux, laver immédiatement et abondamment avec de l'eau et consulter un médecin. Porter des gants appropriés et un appareil de protection des yeux/du visage. En cas d'accident ou de malaise, consulter immédiatement un médecin (si possible, lui montrer l'étiquette).

Contact tél.: tous pays: +49-621-7590

Préparation des réactifs

Les réactifs sont prêts à l'emploi.

Conservation et stabilité

Avant ouverture, entre 15 et 25 °C Voir la date de péremption sur l'étiquette du cobas c pack.

Analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus
Sur l'analyseur, entre 10 et 15 °C 12 semaines
Analyseur COBAS INTEGRA 800
Sur l'analyseur, à 8 °C 6 semaines

Prélèvement et préparation des échantillons

Pour le prélèvement et la préparation des échantillons, utiliser uniquement des tubes ou récipients de recueil appropriés.

Seuls les types d'échantillons suivants ont été testés et peuvent être utilisés:

Urine: utiliser de l'urine recueillie en cours de miction ou les urines de 24 h. Ne pas utiliser de conservateur. Conserver les échantillons au réfrigérateur tout au long du recueil.

Liquide céphalo-rachidien (LCR): L'utilisation d'additifs particuliers n'est pas nécessaire. La présence de sang dans le LCR conduit à l'obtention de taux de protéines erronés.¹

Les échantillons d'urine et de LCR doivent être recueillis avant l'administration de fluorescéine ou au moins 24 heures après.⁶

Les différents types d'échantillons indiqués ci-dessus ont été testés à l'aide d'une sélection de tubes de prélèvement disponibles dans le commerce au moment du test: les tubes de prélèvement des différents fabricants n'ont pas tous été testés. Les systèmes de prélèvement du sang de divers fabricants peuvent contenir différents matériaux pouvant, dans certains cas, influencer le résultat du test. En cas d'utilisation de tubes primaires (systèmes de prélèvement du sang), suivre les instructions données par le fabricant.

Stabilité²

Urine: 1 jour entre 15 et 25 °C
7 jours entre 2 et 8 °C
1 mois entre -15 et -25 °C
LCR: 1 jour entre 15 et 25 °C
6 jours entre 2 et 8 °C
> 1 an entre -15 et -25 °C

Les échantillons qui contiennent un précipité doivent être centrifugés avant l'analyse. Les échantillons non centrifugés peuvent conduire à l'obtention de résultats élevés.

Matériel fourni

Voir paragraphe «Réactifs - composition et concentrations».

Matériel auxiliaire nécessaire

NaCl Diluent 9 %, Réf. 20756350 322, system-ID 07 5635 0 pour la post-dilution automatique ou les séries de dilutions de standards. NaCl Diluent 9 % est placé sur le rack à sa position prédéfinie. La solution est stable 4 semaines sur les analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus/800.

Réalisation du test

Pour garantir le bon fonctionnement du test, se conformer aux instructions relatives à l'analyseur utilisé indiquées dans la présente notice. Pour les instructions spécifiques de l'analyseur, se référer au manuel d'utilisation approprié.

Application pour l'urine et le LCR**COBAS INTEGRA 400/400 plus Définition du test**

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A	512 nm
Calc. premier/dernier	33/40
Unité	mg/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	100 µL	
Echantillon	10 µL	15 µL
SR	40 µL	
Volume total	165 µL	

COBAS INTEGRA 800 Définition du test

Mode de mesure	Absorbance
Mode de calcul	Point final
Mode réactionnel	R1-S-SR
Sens de la réaction	Croissant
Longueur d'onde A	512 nm
Calc. premier/dernier	44/60
Unité	mg/L

Paramètres de pipetage

		Diluant (H ₂ O)
R1	100 µL	
Echantillon	10 µL	15 µL
SR	40 µL	
Volume total	165 µL	

Calibration

Calibrateur	C.f.a.s. PUC
Type calibration	Logit/log 4
Rapports de dilution du calibrateur	1/1, 1/4, 1/8, 1/20, 1/40 et 0 mg/L Dilution automatique
Nombre de répliques	Duplication recommandée
Fréquence des calibrations	COBAS INTEGRA 400/400 plus: A chaque cobas c pack, tous les 43 jours et si le contrôle de qualité l'exige. COBAS INTEGRA 800: A chaque lot et si le contrôle de qualité l'exige.

Entrer la valeur des protéines totales (urine et/ou LCR) spécifique du lot du calibrateur non dilué indiquée sur la notice du calibrateur C.f.a.s. PUC.

Traçabilité: la méthode a été standardisée par rapport à un matériel de référence interne traçable selon le NIST.

Contrôle de qualité

Valeurs de référence	Precinorm PUC
Limites pathologiques	Precipath PUC
Fréquence des contrôles	24 h recommandé
Séquence de contrôle	Au choix de l'utilisateur
Contrôle après calibration	Recommandé

Pour le contrôle de qualité, utiliser les matériaux de contrôle indiqués dans la section « Références de commande ». D'autres contrôles appropriés peuvent également être utilisés.

La fréquence des contrôles et les limites de confiance doivent être adaptées aux exigences du laboratoire. Les résultats doivent se situer dans les limites de confiance définies.

Chaque laboratoire devra établir la procédure à suivre si les résultats se situent en dehors des limites définies. Se conformer à la réglementation gouvernementale et aux directives locales en vigueur relatives au contrôle de qualité.

Calcul des résultats

Les analyseurs COBAS INTEGRA calculent automatiquement la concentration en analyte de chaque échantillon. Pour plus de détails, se référer à la partie Données analytiques de l'Aide en ligne (pour les analyseurs COBAS INTEGRA 400/400 plus/800).

Facteur de conversion: $\text{mg/L} \times 0.1 = \text{mg/dL}$

Calcul de l'excrétion de protéines dans l'urine par 24 heures:
 $\text{mg/L} \times \text{volume total (litres/24 h)} = \text{mg/jour}$

Limites d'utilisation - interférences

Critère d'acceptabilité: recouvrement $\pm 10\%$ de la valeur initiale

Urine

Ictère ⁹	Pas d'interférence significative par la bilirubine conjuguée jusqu'à 599 $\mu\text{mol/L}$ (35 mg/dL).
Hémolyse ⁹	L'hémoglobine est gênante. ⁹
Médicaments	Aucune interférence n'a été trouvée aux concentrations thérapeutiques sur un panel de médicaments fréquemment administrés. ¹⁰ <i>Exception:</i> La lévodopa, la méthylidopa et la céfoxitine sodique conduisent, aux concentrations thérapeutiques, à des interférences (taux de protéines totales artificiellement élevés).
Autres	Les produits de contraste radio-opaques contenant de l'iode organiquement lié (Hexabrix) peuvent conduire à l'obtention de résultats faussement élevés. Des concentrations élevées d'acide homogénisique dans les échantillons d'urine conduisent à l'obtention de résultats erronés. Dans de très rares cas, la gammopathie, en particulier de type IgM (macroglobulinémie de Waldenström), peut conduire à des résultats erronés. ¹¹
LCR	L'hémoglobine est gênante. ⁹

Les substances suivantes, ajoutées à un pool d'urine humaine normale ou pathologique, n'ont montré aucune interférence significative:

Chlorure d'ammonium	187 mmol/L	(10 g/L)
Citrate	10 mmol/L	(190 mg/dL)
Créatinine	53 mmol/L	(6 g/L)
Glucose	194 mmol/L	(35 g/L)
Magnésium	75 mmol/L	(1.8 g/L)
Oxalate	10 mmol/L	(90 mg/dL)
Phosphate	39 mmol/L	(1.2 g/L)
Urée	833 mmol/L	(50 g/L)
Acide urique	5 mmol/L	(85 mg/dL)

L'administration de succédanés du plasma à base de gélatine peut conduire à des résultats de protéines totales dans l'urine par excès.

Les échantillons extrêmement élevés, très éloignés du domaine de mesure, peuvent donner des résultats faussement bas.

Pour le diagnostic, les résultats doivent toujours être confrontés aux données de l'anamnèse du patient, au tableau clinique et aux résultats d'autres examens.

ACTION NÉCESSAIRE

Programmation de séquences de lavages spéciaux: sur les analyseurs COBAS INTEGRA, certaines combinaisons de tests nécessitent la programmation d'étapes de lavage spéciales. Pour plus d'informations, se référer au Recueil de Méthodologies, Introduction, Cycles de lavage supplémentaires.
 Le cas échéant, la programmation des lavages spéciaux/de prévention des contaminations doit être implémentée avant d'effectuer le rapport de ce test.

IMPORTANT

Pour éviter les contaminations, il est recommandé de doser les échantillons de LCR et d'urine dans des séries indépendantes sur les analyseurs COBAS INTEGRA 800.

Il est recommandé de programmer un test pour cycle de lavage supplémentaire (EWC-S, 0-989) avant les séries d'échantillons de LCR, comme décrit dans le Manuel de Méthodologies, Introduction.

N.B.: la contamination des dosages de TPUC par ceux de fructosamine ne peut pas être évitée avec le programme de prévention des analyseurs COBAS INTEGRA 800.

Limites et intervalles

Domaine de mesure (urine et LCR)

40-2000 mg/L (4-200 mg/dL)

Déterminer les échantillons ayant des concentrations plus élevées via la fonction Réanalyse. La dilution des échantillons déterminés par la fonction réanalyse est de 1/3. Les résultats des échantillons dilués pour la réanalyse sont automatiquement multipliés par le facteur 3.

Limites inférieures de mesure

Limite inférieure de détection du test:

40 mg/L (4 mg/dL)

La limite inférieure de détection correspond à la plus faible concentration mesurable en analyte pouvant être distinguée de zéro. Elle est obtenue par le calcul et correspond au triple de l'écart-type du standard zéro (standard zéro + 3SD, répétabilité, n = 21).

Valeurs de référence

Urine:¹² de 24 h: < 140 mg/24 h*
 en cours de miction: < 150 mg/L*

* Valeurs obtenues avec des échantillons centrifugés

LCR:

Domaine de référence selon Tietz:¹³ 150-450 mg/L (15-45 mg/dL)

Domaine de réf. selon Thomas:¹⁴ 200-400 mg/L (20-40 mg/dL)

Chaque laboratoire devra vérifier la validité de ces valeurs et établir au besoin ses propres domaines de référence selon la population examinée.

Performances analytiques pour l'urine

Les performances analytiques indiquées ci-dessous sont représentatives. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La précision a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne: répétabilité^a (n = 21) et précision intermédiaire^b (1 aliquote par série, 1 série par jour sur 21 jours). Les résultats suivants ont été obtenus:

COBAS

INTEGRA 400/800

Substrats

Echantillon	Répétabilité ^a			Précision intermédiaire ^b		
	Moyenne mg/L	SD mg/L	CV %	Moyenne mg/L	SD mg/L	CV %
Precinorm PUC	245	1	0.5	329	3	0.9
Precipath PUC	789	3	0.3	792	3	0.4

a) Répétabilité = précision intra-série

b) Précision intermédiaire = précision totale/précision inter-séries/précision inter-jours

Comparaison de méthodes

Les taux de protéines totales dans l'urine humaine obtenus avec le réactif COBAS INTEGRA Total Protein Urine/CSF Gen.3 sur un analyseur COBAS INTEGRA 800 (y) ont été comparés à ceux déterminés avec le même réactif sur un analyseur Roche/Hitachi 917 (x) et avec le réactif précédent (TPU-C) sur un analyseur COBAS INTEGRA 800 (x).

Analyseur Roche/Hitachi 917	n = 113
Passing/Bablok ¹⁵	Régression linéaire
$y = 0.981x + 6.61$ mg/L	$y = 0.970x + 20.9$ mg/L
$r = 0.923$	$r = 0.994$
SD (md 95) = 56.4	Sy.x = 29.2

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 40 et 1788 mg/L (4.0 et 178.8 mg/dL).

Analyseur COBAS INTEGRA 800	n = 137
Passing/Bablok ¹⁵	Régression linéaire
$y = 0.872x + 22.6$ mg/L	$y = 0.770x + 35$ mg/L
$r = 0.762$	$r = 0.981$
SD (md 95) = 87.9	Sy.x = 35.1

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 14 et 1675 mg/L (1.4 et 167.5 mg/dL).

Performances analytiques pour le LCR

Les résultats indiqués ci-dessous ont été obtenus avec des analyseurs COBAS INTEGRA. Les résultats obtenus au laboratoire peuvent différer de ceux-ci.

Précision

La précision a été déterminée à l'aide d'échantillons humains et de contrôles selon un protocole interne: répétabilité^c (n = 21) et précision intermédiaire^d (1 aliquote par série, 1 série par jour sur 21 jours). Les résultats suivants ont été obtenus:

Echantillon	Répétabilité ^c			Précision intermédiaire ^d		
	Moyenne mg/L	SD mg/L	CV %	Moyenne mg/L	SD mg/L	CV %
Precinorm PUC	329	2	0.6	329	3	0.9
Precipath PUC	789	3	0.3	792	3	0.34

c) Répétabilité = précision intra-série

d) Précision intermédiaire = précision totale/précision inter-séries/précision inter-jours

Comparaison de méthodes

Les taux de protéines totales dans le LCR humain obtenus avec le réactif COBAS INTEGRA Total Protein Urine/CSF Gen.3 sur un analyseur COBAS INTEGRA 800 (y) ont été comparés à ceux déterminés avec le même réactif sur un analyseur Roche/Hitachi MODULAR P (x) et avec le réactif précédent (TPU-C) sur un analyseur COBAS INTEGRA 800 (x).

Analyseur Roche/Hitachi MODULAR P	n = 28
Passing/Bablok ¹⁵	Régression linéaire
$y = 0.976x + 1.23$ mg/L	$y = 0.981x + 2.01$ mg/L
$r = 0.979$	$r = 0.998$
SD (md 95) = 13.3	Sy.x = 8.2

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 43 et 952 mg/L (4.3 et 95.2 mg/dL).

Analyseur COBAS INTEGRA 800	n = 24
Passing/Bablok ¹⁵	Régression linéaire
$y = 0.87x + 1.35$ mg/L	$y = 0.86x - 0.48$ mg/L
$r = 0.935$	$r = 0.996$
SD (md 95) = 28.1	Sy.x = 15.4

Les concentrations des échantillons étaient situées entre 171 et 1296 mg/L (17.1 et 129.6 mg/dL).

Références bibliographiques

- Tietz NW. Fundamentals of Clinical Chemistry. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1987:336,339-341.
- Boege F, Bence Jones-Proteine. J Lab Med 1999;23:477-482.
- Iwata I, Nishikaze O. Clin Chem 1979;25/7:1317-1319
- Luxton R, Patel P, Keir G, Thompson E. Clin Chem 1989;35/8:1731-1734
- Hohnadel DC, Koller A. Urine protein total. Dans: Pesce AJ, Kaplan LA, éditeurs. Methods in clinical chemistry, St. Louis: The C.W.Mosby Co., 1987:35-45.
- Koumantakis G. Fluorescein Interference with Urinary Creatinine and Protein Measurements. Clin Chem 1991;37/10:1799.
- Use of Anticoagulants in Diagnostic Laboratory Investigations. WHO Publication WHO/DIL/LAB/99.1 Rev.2. 2002.
- Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical Comparisons of Interferences in Clinical Chemistry Instrumentation. Clin Chem 1986;32:470-475.
- Yilmaz FM, Yücel D. Effect of Addition of Hemolysate on Urine and Cerebrospinal Fluid Assays for Protein. Clin Chem 2006;52:152-153.
- Sonntag O, Scholer A. Drug interferences in clinical chemistry: recommendation of drugs and their concentrations to be used in drug interference studies. Ann Clin Biochem 2001;38:376-385.
- Balker AJ, Mücke M. Gammopathy interference in clinical chemistry assays: mechanisms, detection and prevention. Clin Chem Lab Med 2007;45(9):1240-1243.
- Junge W, Wille B, Halabi A, et al. Reference Intervals for Total Protein in Collected and Random Urine using the Benzethonium Chloride Method. Clin Chem 2006;52:A157[Abstract].
- Tietz NW, éd. Clinical Guide to Laboratory Tests. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders 1995:520.
- Thomas L. Labor und Diagnose. 6. Auflage; TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, Frankfurt/Main, 2005:930-934.
- Bablok W, Passing H, Bender R, et al. A general regression procedure for method transformation. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part III. J Clin Chem Clin Biochem 1988 Nov;26(11):783-790.

Dans cette fiche technique, le séparateur décimal pour partager la partie décimale de la partie entière d'un nombre décimal est un point. Aucun séparateur de milliers n'est utilisé.

Les modifications importantes par rapport à la version précédente sont signalées par une barre verticale dans la marge.
© 2012, Roche Diagnostics

Roche Diagnostics GmbH, Sandhofer Strasse 116, D-60305 Mannheim
www.roche.com

