

Sommaire

Introduction générale.....	1
Présentation du laboratoire d'accueil	
1- Description	2
2-Organigramme du CRTS Fès	3
3-Rôle du CRTS de Fès.....	4
4-Bref aperçu sur les activité du CRTS.....	4
5-Population étudié	6
Partie bibliographique	
I.Rappel biochimique	8
1. Aspartate aminotransférase.....	9
2.Alanine aminotransférase	10
II.Rappel physiologique	
1.Signification sémiologique.....	11
1.1.Infarctus du myocarde.....	11
1.2Hépatite aiguës	12
III. Historique.....	12
IV. Méthode de mesure.....	13
V.valeurs normales.....	14
VI. variation physiologique	
1.Elevation des transaminases	14
2.Diminition des transaminases	14
VII. variations pathologiques	
1.cytolyse aigue	15
2.cytolyse chronique.....	15
-Le foie et la fonction hépatique.....	15
VIII .Etiologie d'une hypertransaminasémie	
1.Interprétation classique.....	16
2. Etiologies en fonction du degré d'élévation des transaminases.....	17
2.1 Elévation importante des transaminases.....	17
2.1.1 Hépatites aiguës virales.....	17
2.1.2 Hépatites médicamenteuses.....	18
2.2.3 Hépatites aiguës toxiques.....	18
2.2 Etiologies d'hypertransaminasémie modéré.....	18

Partie pratique : matériel et méthodes

I. Méthodologie de travail

1.Prélèvement.....	20
2.Contrôle des prélèvement à leur réception au l'laboratoire.....	20
3.Centrifugation.....	20
4.Manipulation des tubes.....	21
5.Condition de conservation	21
6.Gestion des déchets.....	21

II. Les bonnes pratiques du dosage d'ALAT

1.Matériel	21
2.Distribution des échantillon.....	21
3.Déroulement de la technique.....	22
3.1 Méthode colorimétrique.....	22
3.1.1.Principe	22
3.1.2.Composition des réactifs utilisés.....	22
3.1.3Protocole expérimental.....	22
3.2 Méthode cinétique	23
3.2.1 Principe.....	23
3.2.2 Composition des réactifs.....	23
3.2.3 Protocole expérimental.....	24

III. Détermination du taux des ALAT

1. Méthode colorimétrique.....	25
2. Méthode cinétique	25

IV. Interprétation

26

V. Validation analytique

1.Controle quotidien interne propre au laboratoire.....	26
2. Transcription des résultats	27
3. Validation de la transcription des résultats.....	27
4. L'archivage des supports d'enregistrement.....	27
5. Libération des résultats.....	28

Résultat et discussion

I. la gamme d'étalonnage.....	30
II. calcul du S.E .D.....	31
III. Etude statistique.....	33
Discussion.....	35
Conclusion.....	36

Liste des abréviations :

- AA : Acides aminés.
- ALAT : Alanine amino transférase.
- ASAT : Aspartate aminotransférase.
- CNTS : Centre national de transfusion sanguine.
- CRTS : Centre régional de transfusion sanguine.
- CGR : Culot globulaire sanguin.
- CPS : Culot plaquettes sanguines.
- CPS : Culot plasmatique sanguin.
- FICC : Fédération internationale de chimie clinique.
- HVA : Virus de l'hépatite A.
- HVB : Virus de l'hépatite B.
- HVC : Virus de l'hépatite C.
- HVE : Virus de l'hépatite E
- LDH : lactate déshydrogénase
- MDH : Malate déshydrogénase
- IgM : Immunoglobulines M.
- PSL : Produit sanguins labiles.
- PFC : plasma frais congelé.
- RPM : Rotation par minute.
- S.E.D : seuil d'exclusion des donneurs.
- TGO : Transaminase glutamique oxaloacétique.
- TGP : Transaminase glutamique pyruvique.
- TPHA : Tréponème pallidum hémagglutinine assay.

Introduction générale :

La transfusion sanguine est une thérapie vitale se basant sur l'injection intraveineuse de sang ou ses dérivés (globules rouges, plaquettes, plasma et fractions plasmatiques) provenant d'un donneur à un receveur. Sous le nom de transfusion sanguine on englobe la collecte, la préparation et l'utilisation du sang ou ses dérivés (8).

Les indications médicales de la transfusion consistent essentiellement dans le traitement des anémies, qui proviennent soit d'un défaut de production des globules rouges (aplasies médullaires, anémies des leucémies aiguës), soit d'un excès de destruction des globules rouges (anémies par hémolyse), soit encore d'une tendance hémorragique constitutionnelle ou acquise (hémophilie, purpura thrombopénique, choc traumatique, hémorragie au cours d'interventions chirurgicales ou accouchements difficiles) .

Dans un passé proche, les efforts se sont principalement focalisés sur la réduction des risques infectieux liés à la transfusion sanguine. L'existence d'un passage sanguin asymptomatique de certains virus, bactéries ou parasites, pose un risque de transmission de ces agents lors d'une transfusion sanguine. Avec les progrès considérables faits ces dernières années en matière de sécurité virale, ce risque est bien maîtrisé pour certaines infections comme celles dues aux VIH, VHC et VHB, grâce à la qualification biologique du don (recherche des anticorps et/ou antigènes du VIH, VHB et VHC). Il persiste néanmoins un risque de transmission virale lié aux dons prélevés pendant la "fenêtre silencieuse", définie comme la phase précoce de l'infection qui précède l'apparition des marqueurs biologiques « phase de séroconversion » (3) Ce risque ; bien documenté et régulièrement réévalué ; est réduit au minimum grâce à la sélection des donneurs en amont du don en vue d'exclure tout cas suspect. Actuellement, c'est en fait le risque bactérien qui reste le plus redoutable.

Cependant, il existe d'autres infections pour lesquelles la transmission par le sang est plausible ou même documentée, du fait d'un passage sanguin de l'agent infectieux chez un donneur infecté et asymptomatique au moment du don. Ces infections sont majoritairement des infections aiguës qui ne sont donc pas encore détectables par sérologie.

Argument du choix du sujet :

La mesure de l'activité sérique des transaminases est l'un des tests biologiques les plus couramment effectués en hépatologie. Son augmentation n'est pas toujours d'interprétation facile. Le fait qu'il figure parmi les examens biologiques obligatoires à faire subir à tous les dons ; bien que le dépistage direct des hépatites B et C soit fait ; a suscité ma curiosité pour savoir son utilité et l'atout qu'il apporte à la sécurité transfusionnelle, d'où l'idée de ce sujet intitulé « le rôle du dosage des alanines Amino-Transférases dans la qualification biologique des dons du sang ».

L'objectif du stage :

Le CRTS est un champ riche par ses axes d'investigations techniques dans le domaine de Biologie et santé, d'où mon choix pour faire ce stage de fin d'étude. Les objectifs que je me suis fixés durant ce stage sont :

- Examiner mes connaissances théoriques acquises le long de mon cursus universitaire à la faculté des sciences et techniques de Fès (option biologie et santé) par leur application sur le terrain.
- Apprentissage de certaines techniques de laboratoire.

Laboratoire d'accueil :

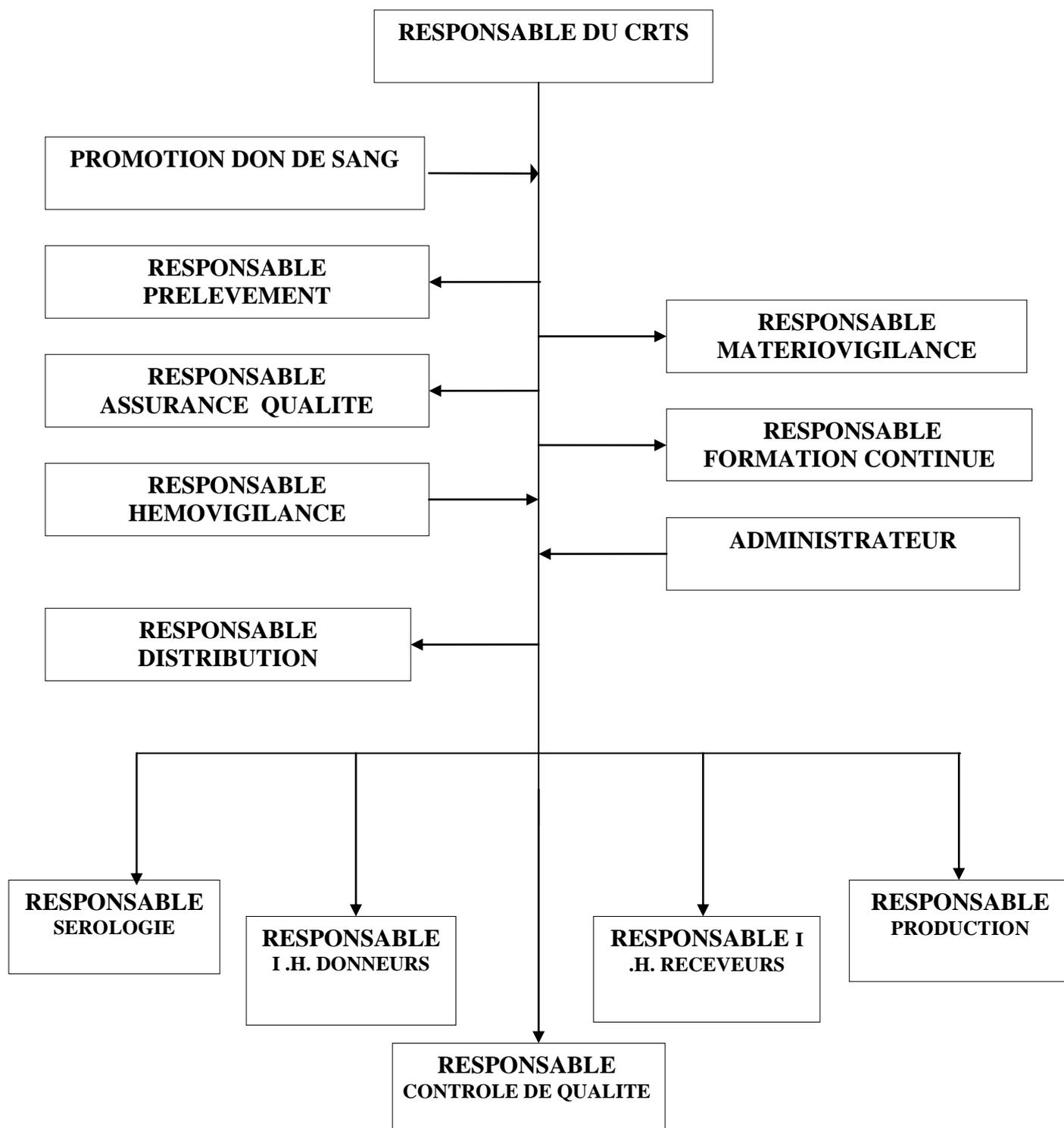
1. Description :

Le centre régional de transfusion sanguine (CRTS) de Fès relève du réseau national de transfusion sanguine qui est constitué de 16 CRTS, de 13 banques de sang et 24 antennes de transfusion ; tous font partie du CNTS, sous la tutelle du ministère de la santé et dépendant hiérarchiquement de la direction des hôpitaux et des soins ambulatoires.

Il est considéré comme l'un des plus importants centres du Maroc. Son staff est comme suit :

- ✓ 4 médecins
- ✓ 3 ingénieurs d'état biologistes
- ✓ 2 Assistants médicaux (Doctorat ou DESA scientifiques)
- ✓ 2 administrateurs
- ✓ 9 infirmiers
- ✓ 1 technicien de laboratoire
- ✓ 1 technicien de statistique
- ✓ 3 secrétaires
- ✓ Chauffeur.

2. Organigramme CRTS Fès :



3. Rôle du CRTS :

- Promouvoir le don du sang et organiser des collectes pour promouvoir l'autosuffisance en PSL.
- Préparer et fournir les produits sanguins labiles (PSL) nécessaires aux malades et aux banques de sang.
- Garantir la qualité et la sécurité des produits.
- Faire les tests immunohématologiques permettant d'éviter une incompatibilité donneur receveur.
- Assurer le contrôle médical des donneurs via l'examen biologique et chimique.

4. Bref aperçu sur les activités du CRTS :

Le don de sang

C'est un geste de générosité car il sauve des vies humaines. Ses bases éthiques sont l'anonymat, le bénévolat et le volontariat. Il se déroule en 4 étapes :

- ✓ Inscription du donneur à l'accueil et enregistrement des renseignements nécessaires pour constituer son dossier.
- ✓ Entretien médical confidentiel obligatoire qui permet au médecin de connaître l'état de santé récent et ancien. Le médecin apprécie si le donneur peut donner son sang sans risque pour sa santé et celle du malade. Le donneur doit être sincère lors de cet entretien médical. Cette phase est primordiale pour la sécurité transfusionnelle.
- ✓ Prélèvement effectué par du personnel qualifié, sous surveillance médicale par crainte que le donneur fasse un malaise, sur des poches stériles à usage unique. Le prélèvement dure 10 minutes : la quantité du sang prélevée est de 400 à 500ml.
- ✓ Temps de repos de 10 minutes permettant une surveillance supplémentaire du donneur pendant qu'il prend la collation qui lui a été offerte avant de quitter le lieu de collecte.

Qualification biologique du don :

La qualification biologique du don concerne l'ensemble des analyses biologiques et tests de dépistage obligatoires préalables à la distribution et à l'utilisation des produits sanguins labiles, et également les analyses biologiques complémentaires non obligatoires qui permettent de compléter les caractéristiques de certains produits sanguins labiles afin de répondre à des utilisations thérapeutiques spécifiques (phénotypé, compatibilité). Ses objectifs sont :

Assurer la sécurité au niveau immuno-hématologique pour transfuser aux receveurs des produits sanguins labiles qui n'entraîneront pas de complications d'ordre immunologiques dues à des incompatibilités entre les PSL et le sang des receveurs.

Assurer la sécurité au niveau de la prévention de maladies transmissibles pas la transfusion ; par la mise à l'écart des dons qui se révèlent porteurs de marqueurs directs (Antigènes) ou indirects (Anticorps) de maladies développées par le donneur et/ou susceptible d'être transmises par transfusion.

Assurer la protection du donneur par son information lorsque des anomalies ou des particularités sont mises en évidence à l'occasion de ces analyses.

Tous les dons sont soumis aux contrôles biologiques obligatoires suivants :

Examens sérologiques :

- Dépistage de la syphilis par le TPHA
- Détection de l'Ag HBs
- Dépistage des anticorps anti VIH1/VIH2
- Dépistage des anticorps anti VHC
- Dosage des Alanines Amino Transférases (ALAT)
-

Examens immuno- hématologiques :

- Groupage sanguin et phénotypage rhésus Kell.
- Dépistage des D-faibles.
- Dépistage des hémolysines Anti-A et Anti-B.
- Dépistage simplifié des agglutinines irrégulières.

La production des produits sanguins labiles

Le sang se compose de cellules et de plasma.

Le plasma contient des protéines diverses, dont :

- Les immunoglobulines.
- L'albumine.
- Les facteurs de coagulation.

Les cellules du sang se divisent en trois catégories :

- Les globules rouges qui transportent l'oxygène des poumons aux tissus et captent le gaz carbonique qui est éliminé ensuite par les voies respiratoires
- Les globules blancs qui défendent l'organisme contre les agressions des microbes, bactéries et virus.
- Les plaquettes qui empêchent le saignement en colmatant les lésions des vaisseaux.

En effet, le sang n'est plus transfusé dans son intégralité. Il est traité et séparé en ses composants. La poche de recueil rassemble donc tous les éléments du sang : globules rouges, plaquettes et plasma. Les produits sanguins labiles (PSL), issus du sang de donneurs, ne subissent aucune transformation, toutes les étapes de préparation des PSL visent uniquement à accroître leur pureté et leur sécurité. La poche de sang est séparée en CGR, PFC et CPS. Le principe étant la centrifugation différentielle et l'extraction sous pression. (12).

L'assurance de qualité :

L'établissement de transfusion sanguine dispose d'un système d'assurance de qualité qui veille sur l'application des normes dictées par le référentiel technique et réglementaire : les bonnes pratiques transfusionnelles.

Ce système se base sur des actions préétablies appelées procédures, formellement décrites et qui doivent faire l'objet d'une application systématique. Cela nécessite, d'une part, l'appropriation de ces actions par les acteurs concernés qui sont formés à cet effet et, d'autre

part, une rigueur de management, une incitation pour cette application et un système de surveillance garantissant la continuité de l'application dans le temps L'objectif des procédures est l'homogénéisation des manières de travailler. Il s'agit d'une mise en ordre des tâches.

L'assurance de la qualité représente un élément de la stratégie de l'établissement de transfusion sanguine afin :

- ✓ D'offrir des produits sanguins labiles conformes aux spécifications
- ✓ D'apporter des preuves permettant de donner confiance.

Et pour se faire, un système de contrôle de qualité complet portant sur toute la chaîne de ce processus doit permettre de dépister les erreurs et avoir pour objectif d'en réduire le nombre à un minimum.

L'hémovigilance :

C'est un processus continu et standardisé de collecte et d'analyse de données depuis la collecte du sang et de ses composants jusqu'au suivi des receveurs, en vue de recueillir et d'estimer l'incidence et la prévalence des effets inattendus ou indésirables résultant de l'utilisation thérapeutique des produits sanguins labiles et d'en prévenir l'apparition afin d'assurer une sécurité transfusionnelle optimale. C'est l'objectif de chaque opération effectuée dans les différents secteurs du CRTS et c'est l'objectif pour lequel sont instaurés les différents examens biologiques.

5. Population étudiée :

Pour évaluer l'impact de la mesure de l'activité des transaminases de type ALAT dans la prévention des hépatites post transfusionnelles. Deux études ont été menées :

Une étude pratique menée sur les donateurs de sang bénévoles qui se sont présentés au centre de transfusion sanguine de Fès durant la période allant du 15 Avril au 31 Mai 2010 pour maîtriser les techniques de dépistage conçus pour cet effet.

Une étude théorique via l'exploitation des données archivées de janvier 2009 à mai 2010. (12).

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

I.Rappel biochimique :

La transamination est une réaction biochimique au cours de laquelle, les aminoacides sont désaminés par des aminotransférases assurant les échanges d'azote entre les acides aminés et les acides alpha cétoniques. Autrement dit, les transaminases sont des aminotransférases c'est à dire des enzymes intracellulaires intervenant dans la synthèse et la dégradation des acides aminés en transportant de façon réversible un groupement amine d'un acide aminé à un acide cétonique avec formation d'un nouvel acide alpha cétonique selon la réaction générale suivante.

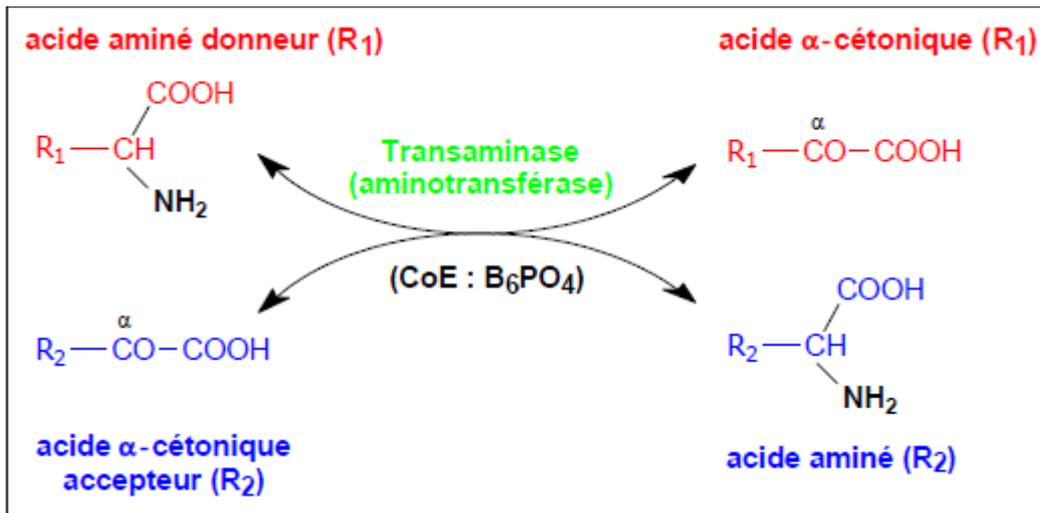


Figure 1 : Schéma général de transamination.

(Prof Andre le treut 2009, faculté de médecine de rennes)

La réaction de transamination nécessite un coenzyme phosphate de peridoxal, transporteur intermédiaire de la fonction amine, et se déroule en 2 étapes :

1^{ère} étape : le phosphate de peridoxal se charge du groupement amine et se transforme en phosphate de pyridoxamine (ppNH₂), il y a libération du 1^{er} produit, l'acide α cétonique 1.

Acide α aminé 1 + phosphate de pérodoxal → acide α cétonique 1 + phosphate de pérodoxamine.

2^{ème} étape : Le phosphate de pyridoxamine donne son groupement amine à l'acide cétonique 2 qui se transforme en acide aminé 2.

Acide α cétonique 2 + phosphate de pérodoxamine → acide α aminé 2 + phosphate de pyridoxal.

Les transaminases sont spécifiques de l'acide aminé donneur.

La plupart utilisent l'α - céto glutarate comme groupement accepteur d'amine. Il y'a alors production de L-glutamate (11).

Il existe plusieurs types de transaminases ou aminotransférases mais deux seulement présentent un intérêt particulier en biochimie clinique :

1. Aspartate aminotransférase :

L'aspartate aminotransférase (ASAT) anciennement appelée transaminase glutamique oxaloacétique (TGO, GOT), essentiellement localisée dans le muscle strié, cardiaque ou squelettique, mais aussi dans le foie (dans la mitochondrie à 90%), sa demi-vie est de 17 heures, ce qui explique dans les situations aiguës, le retour plus rapide à la normale de l'ASAT que de l'ALAT. Il existe 2 types d'aspartate aminotransférase, une cytoplasmique (GOT1), une mitochondriale (GOT2).

✓ **Sequence d'acides aminés:**

GOT1: 421AA

GOT2: 430AA

✓ **Fonction:**

Catalyse le transfert du groupe amine de Aspartate vers l' α cétoglutarate pour former l'oxaloacétate et du glutamate.

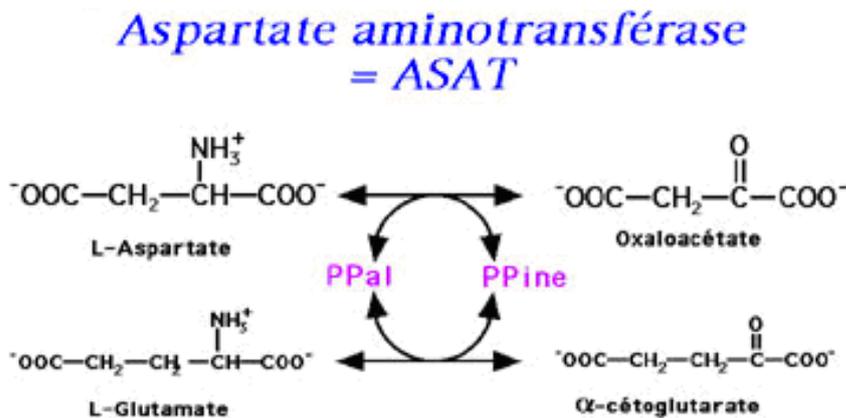


Figure n° 2 : Schéma réactionnel

(Cours de biochimie Chups.jussieu)

2. Alanine aminotransférase :

L'alanine aminotransférase (ALAT), anciennement appelée SGOT ou transaminase glutamique pyruvique (TGP ou GPT), localisée presque exclusivement dans le cytoplasme des cellules parenchymateuses du foie. Elle siège aussi dans les muscles et sa demi vie est de 47 heures. Récemment deux isoformes de L'ALAT chacune codée par un gène différent, ont été identifiés chez l'homme avec une expression tissulaire distincte au niveau d'ARNm. ALAT1 est principalement exprimé dans l'intestin, le foie, les reins et le cœur tandis que ALAT2 est principalement exprimée dans le muscle, le cerveau, les reins et le foie.(20)

✓ Séquence d'acides amines :

GPT1 :496 AA

GPT2 :523AA

✓ Fonction :

Catalyse le transfert du groupe amine de l'alanine vers l'alpha-cétoglutarate pour former du pyruvate et du glutamate, fait intervenir le pérodoxal 5'-phosphate ou vitamine B6 comme coenzyme. Le pérodoxal sert d'accepteur intermédiaire du NH₂ il est transformé de façon réversible en phosphate de pérodoxamine.

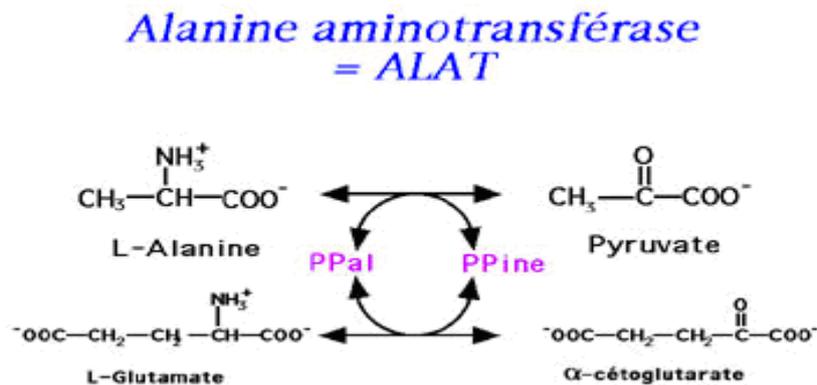


Figure 3 : schéma réactionnel

(Cours de biochimie.Chups.jussieu)

Leur concentration normale dans le sang est très faible.

II. Rappel physiologique :

ALAT = enzymes qui se trouvent normalement à l'intérieur de l'hépatocyte. Elles se libèrent dans le sang en cas de destruction totale ou partielle de ces cellules. Les cellules du foie ont une durée de vie moyenne qui varie entre 300 et 500 jours. Elles régénèrent très vite, voir plus vite que les cellules cancéreuses. Le taux des ALAT dans le sang sert à diagnostiquer et suivre les maladies du foie.

Les ALAT avec les ASAT sont des enzymes qui se trouvent normalement à l'intérieur des cellules et dans une faible quantité dans le sang (il y a toujours un certain nombre de cellules qui meurent pour être remplacées par des nouvelles). Quand les cellules du corps meurent dans des proportions anormales ou quand elles sont abîmées, comme c'est le cas lors des hépatites, ces enzymes se libèrent massivement dans le sang, ce qui fait grimper très vite leur concentration sanguine.

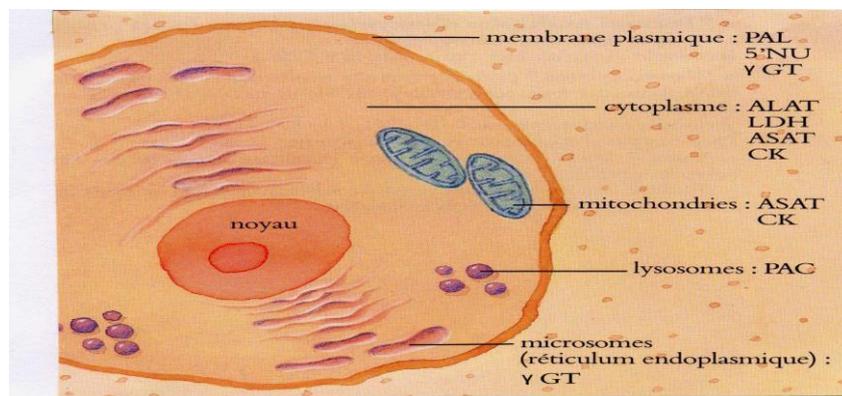


Figure 4 : localisation cellulaire d'ALAT et ASAT

(Marqueurs cardiaques C .masart département de biochimie et biologie moléculaire université de rennes)

1. Signification sémiologique :

2.1 Infarctus du myocarde :

- ALAT : peu de modification.
- ASAT : augmentation importante 4 à 6 h après l'infarctus, avec un maximum 24 à 48 h plus tard, puis retour à la normal au bout de 4 à 7 jours.

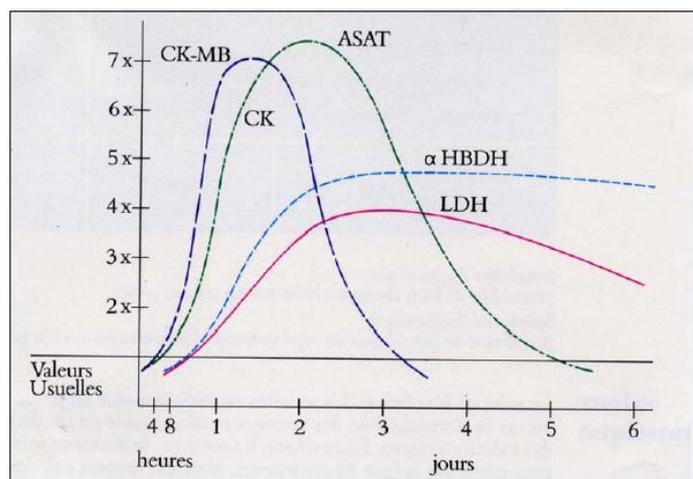


Figure 5 : Évolution des enzymes au cours de l'infarctus du myocarde

(Marqueurs cardiaques C.masart département de biochimie et biologie moléculaire université de rennes).

2.2 Hépatites aiguës :

- ALAT : Valeur très élevée 10 à 100 fois les valeurs de référence.
- ASAT : augmentation moyenne.

En effet une augmentation franche de l'activité des aminotransférases (supérieure à 10 fois la limite supérieure de la normale) traduit une cytolysse certaine quelque soit l'étiologie, tandis que son augmentation modérée se rencontre dans n'importe quelle souffrance hépatocellulaire

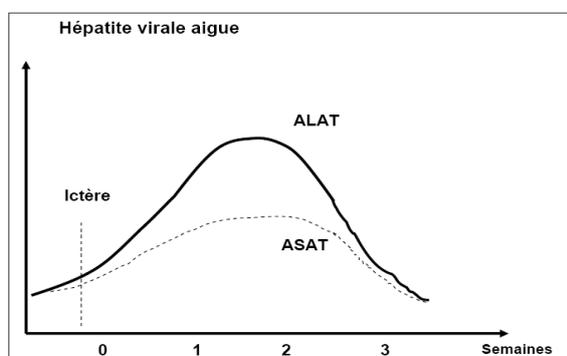


Figure 6: Évolution des ALAT et des ASAT au cours des hépatites aiguës

CHU de Rennes, 35033 Rennes cedex sémiologie biochimique.

III. Historique :

- Le taux sanguin d'ALAT est logiquement élevé en cas de lyse des cellules du foie (cytolysse). C'est le cas lors des hépatites, qu'elles soient virales ou d'autres origines. Cette élévation a été notée dès les années **1950**.
- En **1956**, Wroblewski et La Due ont décrit la première détermination cinétique de l'activité de l'ALAT dans le sérum.

- En **1977** et **1980** la FICC a recommandé des méthodes standardisées de détermination de l'activité de l'ALAT avec une concentration optimisée de substrat, utilisation de tampons TRIS aminomethane, pré incubation du sérum avec le tampon pour que les réactions secondaires avec le NADH aient lieu, déclenchement de la réaction avec le substrat et activation des échantillons par le pyridoxal phosphate.
- Depuis **1988** la mesure de l'activité de l'ALAT est d'ailleurs le seul test de dépistage biochimique effectué lors de tout don de sang dans les centres de transfusion sanguine.
- Depuis **1992** Le seuil d'exclusion des donneurs est fixé pour les ALAT, c'est la limite supérieure des valeurs normales.
- En **1955**, Karmen et coll ont décrit la première détermination cinétique de l'activité de l'ASAT dans le sérum. (4 ,16 ,21)

IV. Méthode de mesure :

L'activité sérique des transaminases est quantifiée par des méthodes spectrophotométriques.

En biochimie avec le spectrophotomètre il existe deux principales méthodes de dosage :

-La méthode colorimétrique :

Cette méthode est basée sur l'intensité de coloration des substances à doser ou des paramètres à doser .La lecture se fait par densitomètre optique .La densité optique (D.O) de la préparation est en rapport étroit avec la concentration du paramètre à doser.

- La méthode cinétique :

Elle est basée sur le temps de réaction en terme de disparition ou d'apparition des paramètres ou des substances ou leur dérivés dans le milieu réactionnel.

Pour l'ALAT :

La réaction mesurée est la suivante :



La réaction indicatrice est la suivante :



Pour L'ASAT :

La réaction mesurée est la suivante :



La réaction indicatrice est la suivante :



V. Valeurs normales :

La mesure de l'activité sérique des transaminases dans une population normale ne suit pas une distribution gaussienne, mais plutôt une courbe logarithmique. Les limites de références sont définies à partir d'un échantillon de population sélectionnée en tenant compte des critères d'exclusion. Ces valeurs normales sont différentes d'un laboratoire à l'autre du fait de la technique de dosage, mais aussi de la taille de l'échantillon de population témoin considérée ou du fait de variations démographiques ou géographiques. Elles diffèrent aussi selon l'âge et les facteurs héréditaires.

Le seuil d'exclusion des dons du sang est fixé par le législateur et par site transfusionnel. Il est régulièrement corrigé par rapport à la population témoin locale (17).

VI. Variations physiologiques :

1. Elévation des transaminases :

✓ Influence de l'âge :

En ce qui concerne les adultes, l'activité sérique de l'ALAT augmente chez l'homme de 18-45 ans, puis diminue au-delà. Chez les femmes, il y'a une augmentation faible mais constante avec un maximum vers 55-65 ans ou les valeurs deviennent très proches de celles de l'homme.

✓ Influence du sexe :

L'activité sérique de l'ALAT est plus basse chez la femme que chez l'homme quel que soit l'âge sauf à partir de 65ans. L'état hormonal (puberté, ménopause) explique sans doute une partie de ces différences.

✓ Influence du poids :

La surcharge pondérale augmente de 60% l'ALAT des hommes obèses par rapport aux hommes non obèses de la même tranche d'âge. L'effet est beaucoup plus moindre chez les femmes (10%).

✓ Influence des facteurs génétiques :

La population d'origine espagnole présente ainsi des valeurs plus élevées que les blancs d'origine non espagnole, ou les noirs.

En pratique quotidienne, certaines situations au moment du prélèvement ou liées à l'échantillon peuvent influencer, le plus souvent modérément, les résultats du dosage (comme l'exercice physique, la position assise ou debout, la stase veineuse ou l'hémolyse). De plus, après de courtes périodes d'excès alimentaires chez les sujets sains, on peut observer une élévation de l'ASAT ; un régime riche en saccharose (20-30 %) est associé à une élévation transitoire modérée des transaminases. (15)

2. Diminution des transaminases :

- Grossesse.
- Déficit en vit B6 (15)

VII. variations pathologiques :

L'augmentation des transaminases dans le sang signe d'une cytolyse, c'est-à-dire une destruction cellulaire, principalement dans le coeur ou le foie. La définition de la cytolyse hépatique est anatomopathologique. Cela va de la perméabilité membranaire jusqu'à la nécrose, lésion la plus grave, en passant par l'œdème et l'apoptose.

On distingue, de façon arbitraire, **deux grandes situations** :

1. La cytolyse aiguë :

L'activité des transaminases est supérieure à 10 fois la normale avec une durée qui varie de quelques jours à quelques semaines. Cette situation, finalement relativement rare, est représentée essentiellement par les hépatites virales.

2. la cytolyse chronique :

Là encore elle est définie de façon un peu arbitraire. L'activité des transaminases est inférieure à 10 fois la normale et peut durer des mois, voire des années. Cette situation est fréquente et pose des problèmes courants et quotidiens au praticien. La concentration des transaminases dans le sang s'élève au cours de l'infarctus du myocarde et de façon très importante, au cours des hépatites aiguës (d'origine virale, médicamenteuse ou toxique).

Leur taux s'élève également en cas de maladie atteignant les voies biliaires et au cours des cancers du foie. Un rapport ASAT/ALAT supérieur à 2 traduit le plus souvent une hépatite alcoolique. Bien que L'ASAT et L'ALAT augmentent toutes les deux lorsqu'une maladie altère l'intégrité des cellules hépatiques, L'ALAT est plus spécifique du foie. De plus, les augmentations d'activité de L'ALAT persistent d'avantage que celles de L'ASAT. .

Donc Une augmentation de transaminases peut indiquer un infarctus du myocarde, une affection hépatique, une dystrophie musculaire et des lésions tissulaires. Une augmentation de l'activité de l'ALAT dans le sérum est quasi spécifique d'une atteinte du parenchyme. (1.).

✓ Le foie et la fonction hépatique :

Le foie est un des organes les plus importants de l'organisme en volume (il pèse 1,5 à 2Kg chez l'adulte), il s'agit d'un volumineux viscère situé dans la partie droite de l'abdomen, de couleur brun rouge. Il assure plusieurs fonctions métaboliques et constituées de 90 pour cent à 95 pour cent de cellules spécifiques appelées hépatocytes,

Le foie a la particularité de pouvoir se régénérer c'est-à-dire la diminution du nombre d'hépatocytes due par exemple à leur destruction par une agression virale ou toxique, ou à l'ablation chirurgicale d'une partie du foie, sera compensée par la multiplication des cellules restantes qui vont remplacer les cellules détruites.

Vue antérieure du foie

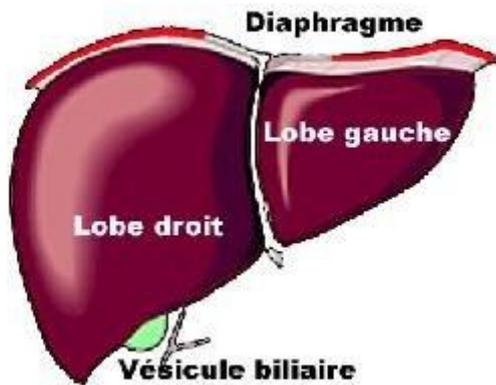


Figure 7 : Anatomie du foie :

(Biochimie médicale mfran croise Vincent FAR M1303).

Fonction hépatique :

La fonction hépatique est l'ensemble des actions que le foie effectue. Globalement, elles sont au nombre de 3 :

- La fabrication et le stockage d'énergie,
- La fabrication de la bile,
- La détoxification. (18)

VIII.Etiologie d'une hypertransaminasemie :

1. Interprétation classique :

L'interprétation classique d'une élévation sérique des transaminases consiste à éliminer d'abord les causes d'erreur, chercher une maladie musculaire, à évoquer certains diagnostics en fonction du degré d'élévation.

Une valeur élevée signifie qu'une anomalie est présente mais ne définit pas une maladie. (7)

Les causes fréquentes d'élévation de transaminases :

- ✓ La stéatose non alcoolique
- ✓ Hépatites virales chroniques.
- ✓ Hépatite médicamenteuse
- ✓ L'hémochromatose.

- ✓ Les maladies extra hépatiques.
 - Coeliaques.
 - Dysthyroïdies. (10)

Les causes rares d'élévation de transaminases :

- ✓ Maladie de Wilson.
- ✓ Le déficit en α antitrypsine.
- ✓ Les hépatites auto-immunes
- ✓ L'insuffisance surrénalienne. (10)

2. Etiologies en fonction du degré d'élévation des transaminases :

2.1. Elévation importante des transaminases :

2.1.1 Hépatite aigue virale :

- virus hépatotropes :

Hépatite A : Transmis par voie orale, le diagnostic se fait par la sérologie, par la mise en évidence d'un anticorps anti HVA du type IgM.

Hépatite E : transmis par voie orale, il affecte exclusivement les asiatiques, et sud américains, le diagnostic est sérologique par la mise en évidence d'un anticorps anti HEV.

Hépatite B : L'hépatite B peut être décelée à sa phase aigue ou lors d'une réactivation, mais bien souvent elle est découverte dans sa phase chronique devant une élévation modérée des transaminases.

Hépatite C : Une élévation importante du taux des ALAT (plus importante que celle des ASAT) est un signe de l'hépatite C, même si ce n'est pas un signe spécifique. D'autres tests sont nécessaires pour déterminer si une personne souffre de l'hépatite C ou non.

Lors du suivi des personnes atteintes par l'hépatite C, le taux des ALAT montre le niveau de la destruction des cellules du foie (hépatocytes). Ce niveau de destruction n'est pas toujours étroitement lié avec l'activité du virus ou avec l'avancement de la fibrose du foie. Le foie possède d'énormes capacités régénératrices et c'est seulement après des années d'hépatite chronique que cette capacité diminue et ne peut équilibrer la destruction massive et prolongée des cellules du foie, qui sont remplacées par du tissu fibreux non fonctionnel.

Parmi les malades ayant des anticorps anti-VHC positifs, certains, malgré la présence d'une multiplication virale (ARN viral détectable par PCR dans le sérum), ont une activité des aminotransférases normale. La prévalence des malades ayant un ARN viral détectable et une activité des aminotransférases normale de façon répétée varie de 7,5 % à 53 %. Les mécanismes responsables de l'hépatite chronique C à activité des aminotransférases normale seraient essentiellement liés à une faible réponse immunitaire de l'hôte vis-à-vis de l'infection virale.

- Hépatite due a d'autres virus :
- Virus du groupe Herpes.
- Cytomégalovirus CMV
 - Herpes (6)

2.1.2 Hépatite médicamenteuse :

Le foie joue un rôle essentiel dans le métabolisme des médicaments, l'administration répétée de ces derniers entraîne une augmentation de la quantité d'enzyme actif.

2.1.3 Hépatite aiguës toxiques :

De nombreuses toxines sont susceptibles d'induire une hépatite aiguë
Intoxication phalloïdienne due à l'ingestion accidentelle d'un champignon, l'amanite phalloïde.

Intoxication au paracétamol l'hépatotoxicité sévère apparaît régulièrement si la dose dépasse 15 grammes.

Il existe d'autres toxines telles que les alcaloïdes, le gui et le charbon.

Une élévation importante des transaminases peut être observée lors de la migration d'une lithiase biliaire lors de son passage à travers le sphincter d'oddi .on observe alors généralement une choléstase associée.

2. 2 Etiologies des hypertransaminasemie modérées :

Les maladies chroniques du foie s'accompagnent, dans la majorité des cas, d'une augmentation modérée de l'activité sérique des transaminases.

L'augmentation des transaminases est souvent corollaire d'une perturbation des enzymes de choléstase (gamma-GT, phosphatases alcalines) ;

On peut distinguer les maladies propres au parenchyme hépatique (et des voies biliaires) et la manifestation liée au retentissement sur la fonction hépatique d'une affection extra hépatique. (5).

En Conclusion : Une augmentation même minime, de l'activité sérique des transaminases doit toujours faire l'objet de la recherche d'une cause si elle est observée lors de plusieurs prélèvements successifs. Les données anamnestiques peuvent permettre une approche rapide de l'affection en cause. **Cependant une augmentation de ces enzymes dans le sérum n'est pas spécifique aux maladies hépatiques :** Certains patients ont des taux d'enzymes normaux mais des lésions hépatiques significatives et inversement. Une atteinte significative du foie est présente chez 35% des porteurs qui ont des tests hépatiques biologiques normaux. (3).

Retrouver un taux des ALAT élevé ne veut pas forcément dire que la personne souffre d'une hépatite. Ces enzymes sont présentes dans les cellules d'autres tissus du corps humain (le cœur, les reins, le pancréas...).

PARTIE PRATIQUE
MATERIEL ET METHODE

I.Méthodologie de travail :

Comme dans tous les autres secteurs, les recommandations du système d'assurance qualité internationale s'appliquent à tous les niveaux de qualification biologique des dons

Pour chaque marqueur, une procédure décrit l'algorithme qui conduit à la qualification biologique du don. Ces procédures prennent en compte l'état des connaissances et des techniques. Il s'agit toutefois des recommandations qui ne doivent pas se substituer à l'appréciation et à l'expérience du responsable du laboratoire

La partie pratique commence par la gestion des échantillons depuis leur prélèvement jusqu'à leur rejet :

1) prélèvement :

Pour chaque donneur, le prélèvement de sang se fait sur une poche triple pour le culot globulaire, le plasma et l'autre pour plaquettes ainsi que deux tubes l'un pour la sérologie et l'autre pour l'immuno-hématologie .pour la sérologie le tube doit être sec.

2) contrôle des prélèvements à leur réception au laboratoire :

- Les tubes doivent être bouchés.
- Etiquetés.
- Accompagnés d'une fiche comportant :
La date.

Le numéro des tubes.

Le nombre des tubes.

Ainsi que le nom du responsable du prélèvement.

3) centrifugation :



Figure 8 : Hétich Rotofix 32A.

- La centrifugation se fait par la centrifugeuse (Hétich Rotofix 32A) à 4000 RPM pendant 4min.

4) manipulation des tubes :

- Déboucher les tubes soigneusement en évitant les éclaboussures et ne plus réutiliser ces bouchons.
- L'analyse se fait à partir du tube primaire en respectant l'ordre de préférence et sans dépasser le délai conseillé par le fournisseur pour chaque type de test.

5) conditions de conservation :

Si le traitement est différé de plus d'une demi-journée, les échantillons doivent être conservés entre +2 et +8°C.

6) Gestion des déchets :

- Les échantillons seront éliminés dans le sac destiné à l'incinération.

II-Les bonnes pratiques du dosage des ALAT :

Cette analyse consiste à doser les ALAT et à interpréter le résultat obtenu par rapport à un seuil d'exclusion des donneurs (S.E.D.) défini comme la limite supérieure de la normale.

1 .Matériel :

- Portoir pour tubes à hémolyse.
- Tubes à hémolyses.
- Micropipettes réglables. (accumax pro de 5-50 µl, socorex 20 µl-200 µl ,5 µl -50 µl, et 1000 µl).
- Embout pour micropipettes.
- Etuve. (WTC binder).
- Spectrophotomètre. (Climat plus).
- Coffret de réactifs pour le dosage. (Labkit pour la méthode colorimétrique et Elitech pour la méthode cinétique).

2. Distribution des échantillons :

- Utiliser un cône neuf pour chaque échantillon.
- vérifier le volume affiché sur la micropipette.
- s'assurer de l'exactitude du volume prélevé.
- éviter les bulles d'air.

3. Déroulement de la technique :

3.1 Méthode colorimétrique :

3.1.1 Principe :

Le sérum glutamique pyruvique catalyse le transfert du groupe amine de L-alanine vers l' α - cétooglutarate pour former du pyruvate et du glutamate dans une réaction réversible, l'ALAT est proportionnel au pyruvate formé et la mesure de la concentration d'ALAT se fait par 2,4-dinitrophenylhydrazine .

3. 1.2 Composition des réactifs utilisés :

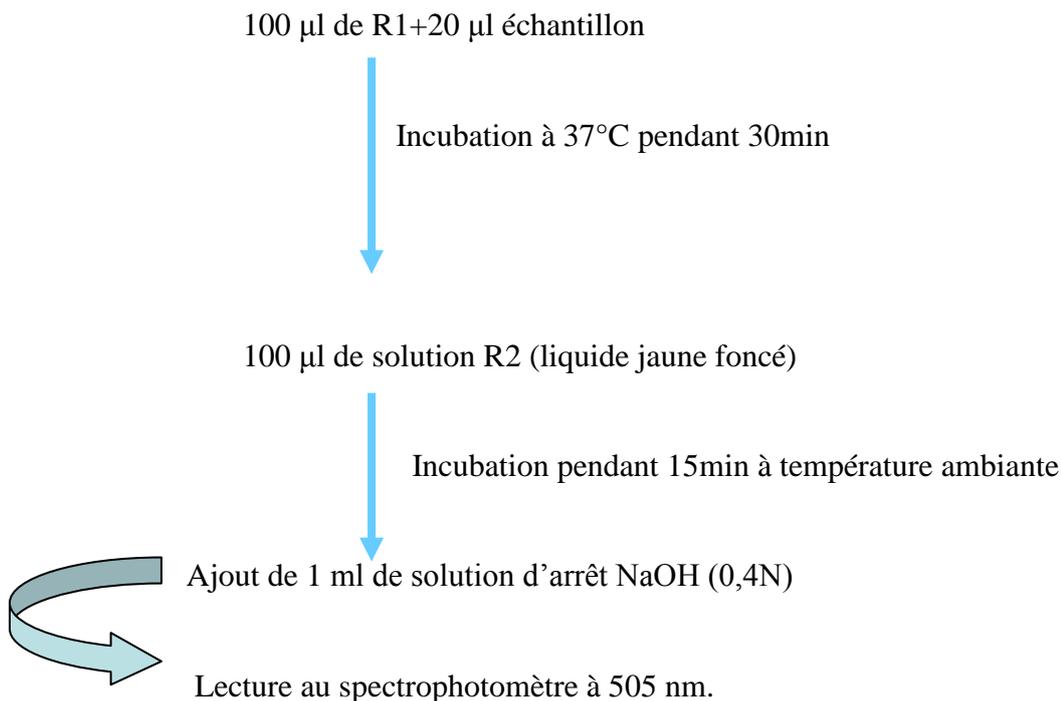
R1 (GPT) : DL-alanine (200mmol/L).

R2 : 2,4 Dinitrophenylhydrazine (1mmol/L).

Solution d'arrêt : hydroxyde de sodium (NaOH) (0,4N) .

3.1.3 Protocole expérimental :

Dans des tubes à hémolyse on met :



3. 2 Méthode cinétique :

3.2.1 Principe :

C'est le couplage entre :

La réaction catalysée par la transaminase considérée : réaction principale .

Une réaction catalysée par un déshydrogénase à NAD⁺/NADH : réaction indicatrice.

L'intérêt de ce couplage est qu'il existe pour NADH, H⁺, la possibilité d'un dosage spécifique et très sensible dans l'ultraviolet à 340nm.

ALAT (sérum)

Alanine + cétooglutarate \longleftrightarrow pyruvate+glutamate

Lactate déshydrogénase

Pyruvate + NAD, H⁺ \longleftrightarrow NAD+lactate

Le NADH est oxydé en NAD⁺. La vitesse de diminution du NADH, est directement proportionnelle à la vitesse de formation du pyruvate et donc à l'activité de l'ALAT, est mesurée par photométrie.

3.2.2Composition des réactifs utilisés :



Figure 9 : coffret de réactifs Elitech

Réactif 1 :R1

Tampon Tris, pH 7,50 (30°)	125	mmol /L
L-aspartate	680	mmol /L
LDH	≥ 2000	mmol /L

Réactif 2 : R2

α -cétoglutarate	97	mmol/L
NADH	1,1	mmol /L

Stabilité des réactifs :

Skocker à 28°C et à l'abri de la lumière

Les réactifs sont stables jusqu'à la date de péremption figurant sur l'étiquette.

Préparation des réactifs :

-si l'on choisi de travailler en mode mono-réactif, mélanger 4 volumes de R1 avec 1 volume de R2. La stabilité du mélange réactionnel est de 5 jours à 20-25°C ou 2 semaines à 2-8°C.

3.2.4 Protocole expérimental :

Une attention particulière doit être portée sur le contrôle de qualité du matériel utilisé pendant toutes les manipulations à savoir la distribution, l'incubation, la lecture ...)

-Méthode mono-réactif :

Mélange réactionnel	200 μ l
Echantillon	20 μ l

Mélanger et après 50 secondes d'incubation, mesurer la variation d'absorbance par min pendant 3 min.

-Méthode bi-réactif :

R1	200 μ l
R2	20 μ l

Mélanger, attendre 25 secondes et ajouter :

Echantillon	25 μ l
-------------	------------

Mélanger et après 50 secondes d'incubation mesurer la variation d'absorbance par min, pendant 2.5 min.

Les recommandations du référentiel de bonnes pratiques transfusionnelles incitent, à l'utilisation du mode bi-réactif.

La lecture se fait par le spectrophotomètre.



Figure : 5 Spectrophotomètre climat plus

III .Détermination du taux des ALAT :

1. Méthode colorimétrique :

Lire en mode multistandards si le spectrophotomètre possède cette propriété, ce mode est programmé de manière permettant la conversion directe des DO obtenues en concentration. Sinon lire en mode absorbance puis convertir les D.O en concentrations en utilisant la courbe d'étalonnage tracée pour chaque lot de réactif

Le résultat est exprimé quantitativement en U./l et est interprété par rapport à un S.E.D.

2. Méthode cinétique :

Lire en mode cinétique si le spectrophotomètre possède cette propriété. Ce mode est programmé de manière à calculer les différences d'absorbances entre deux DO consécutives (Déta A) puis on calcule la moyenne des (Déta A) qu'on multiplie par 1746 pour obtenir la concentration.

$$\text{Activité (U/L)} = \Delta A \times 1746$$

Le facteur 1746 est donné par le fournisseur. Il tient compte des conditions techniques à savoir, la température d'incubation (37°C) et la longueur d'onde choisie pour la lecture (340 nm).

Sinon on lit en mode absorbance et on fait les calculs nous même.

Le résultat est exprimé quantitativement en U.I. /l et est interprété par rapport à un S.E.D.

IV. Interprétation :

Un sérum est ALAT négatif si la concentration calculée est $< S.E.D$

Un sérum est ALAT positive si la concentration calculée est $\geq S.E.D$

Mode de calcul du seuil d'exclusion des donneurs (S.E.D.)

Chaque laboratoire de qualification biologique du don doit calculer les valeurs du S.E.D. hommes et du S.E.D. femmes représentatives de sa population de donneurs.

A partir des taux d'ALAT de deux populations statistiquement représentatives des donneurs hommes et des donneurs femmes et après transformation logarithmique décimale des activités en U.I. /l, les valeurs des S.E.D. sont calculées à l'aide de la formule suivante :

$$S.E.D. = 10^{\text{moyenne} + 1,96 \text{ écart type}}$$

N.B : Moyenne et écart type calculés à partir des logarithmes décimaux des valeurs de dosage des ALAT de la population représentative de donneurs sans exclusion des valeurs hautes et basses.

Rapport-gratuit.com 
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

V.validation analytique :

Comme pour tous les autres marqueurs, la technique utilisée pour le dosage des ALAT doit être dûment validée par l'utilisation des contrôles internes

1. Contrôle quotidien interne propre au laboratoire :

Il s'agit d'échantillons obtenus par dilution d'échantillons positifs ou de réactifs témoins positifs de la trousse de façon à obtenir

-Un témoin dont la concentration est proche du seuil de détection de la technique utilisée.

-Un témoin dont le taux en ALAT est compris entre le S.E.D. femmes et le S.E.D. hommes.

Les activités obtenues pour ces échantillons de contrôle doivent être comprises dans un intervalle de plus ou moins 10% par rapport à la valeur attendue ;

Ils sont à utiliser systématiquement sur chaque série. Ils participent à la validation des résultats d'analyse de chaque plaque et permettent de suivre la variabilité de l'analyse, de détecter les dérives, d'en rechercher l'origine et de les corriger.

L'exploitation des densités optiques doit être paramétrée afin de permettre une validation de la linéarité du dosage et de ses limites de détection. Pour les valeurs supérieures au seuil de linéarité indiqué par le fabricant, il faut refaire le dosage avec l'échantillon dilué et tenir compte du facteur de dilution lors du calcul des concentrations.

Le contrôle doit également prendre en compte l'éventuel effet de zone après une consommation rapide du substrat dans les cas d'hyper-transaminasémie., il convient de refaire le dosage après dilution des échantillons suspects. Il doit également repérer les sérums opaques qui devront être re-contrôlés après traitement particulier.

Il convient également de s'assurer que la soustraction du blanc réactif a été effectuée.

Rapport-gratuit.com 
LE NUMERO 1 MONDIAL DU MÉMOIRES

2. Transcription des résultats :

La transcription des résultats est une étape très importante. Le plus grand soin doit lui être apporté pour assurer son exactitude. Les données ne doivent être enregistrées que par des personnes habilitées. L'identification des échantillons à tester doit être réalisée systématiquement par lecture du numéro imprimé sur l'étiquette de chaque échantillon.

Chaque résultat doit être enregistré d'abord sur une fiche de paillasse puis reporté sur un registre. Le registre de transcription, présent dans le laboratoire comporte toutes les données nécessaires pour chaque échantillon :

- Le numéro de don
- Le type d'analyse
- La date de l'analyse
- Les noms et les numéros de lots des réactifs
- L'identification des témoins utilisés
- la référence du lecteur utilisé
- L'identité du manipulateur
- la valeur seuil, le résultat brut et le résultat net.

L'opérateur doit calculer les valeurs seuils, valider chaque support de réaction à l'aide des témoins et des contrôles ainsi que le déroulement effectif de la réaction et interpréter les échantillons en termes de résultats nets. Ces résultats nets sont de type Normale, Réactif initial, Réactif répétable ou Invalide.

- Invalide lorsqu'il n'est pas validé soit en raison du déroulement de l'analyse biologique, soit par l'analyse des témoins et contrôles précités.
- Réactif initial lorsque le résultat du test mis en œuvre un taux supérieur au S.E.D
- Réactif répétable lorsque le résultat est reproductible lors du contrôle effectué sur le même échantillon

L'identification et l'enregistrement doivent permettre une bonne traçabilité. Le registre sert à l'exploitation des résultats et à leur archivage

3. validation de la transcription des résultats :

Il est nécessaire de prévoir un contrôle supplémentaire pour vérifier l'exactitude de ce qui est enregistré. La lecture et l'interprétation des résultats doivent être faites par deux personnes différentes. Le contrôle doit être effectué par le deuxième opérateur en inversant les rôles.

Une fiche d'anomalie sera remplie pour l'enregistrement et l'analyse des erreurs et pour leur correction. Toutes les défaillances, anomalies ou discordances observées, ainsi que les mesures correctives doivent être consignées.

Personnellement je n'ai pas effectué cette validation.

4. Archivage des supports d'enregistrement :

Les supports d'enregistrement doivent être :

- Rangés selon un ordre permettant de retrouver facilement les données
- Conservés et protégés contre les dommages accidentels ou volontaires.
- Accessibles en vue d'un éventuel audit ou enquête ultérieurs.

5. Libération des résultats :

Consiste à émettre les numéros des dons associés aux résultats validés des tests. En cas d'événement susceptible de remettre en question un résultat, il y a blocage immédiat des produits sanguins labiles correspondants à ce don afin d'empêcher leur distribution et leur utilisation.

Conduite à tenir vis-à-vis du donneur :

Tout échantillon dont le dosage des ALAT est supérieur au S.E.D. peut être re-contrôlé en double, si nécessaire après dilution selon un protocole validé ; ce re-contrôle, s'il est pratiqué, doit être effectué immédiatement ; Ce marqueur ne met en jeu qu'un dosage en tant que dépistage sans analyse complémentaire de spécificité .

Lorsqu'un don présente un taux d'ALAT supérieur au S.E.D., le donneur est informé et convoqué pour re-contrôle et orienté vers un service de soins spécialisé en cas de suspicion d'une pathologie.

En l'absence de suspicion de pathologie, le donneur est contrôlé par le laboratoire de qualification du don et exclu provisoirement du don du sang jusqu'à ce que son taux d'ALAT soit inférieur au S.E.D, sur au moins un prélèvement de contrôle. (13)

RESULTATS

ET

DISCUSSION

I.Méthode colorimétrique :

La gamme d'étalonnage :

Réalisée à partir de calibrateur dont la concentration en ALAT est connue.

Tableau 1 : Réalisation de la gamme d'étalonnage.

Tube	1	2	3	4	5
Eau distillée (µl)	20	20	20	20	20
GPT (µl) (2mmol/l)	100	90	80	70	60
Calibrateur (µl) (1,2mmol/l)	0	10	20	30	40
DNFH (µl) (1mmol/l)	100	100	100	100	100

Les tubes sont mélangés et incubés pendant 20min à une température ambiante, après 1000 µl de NaOH (0,4N) est additionné.

Les tubes sont remélangés et incubés 15 min dans une température ambiante.

Après, la lecture est effectuée à 505 nm, dont le blanc est l'eau distillée.

Les résultats obtenus sont représentés dans le tableau suivant :

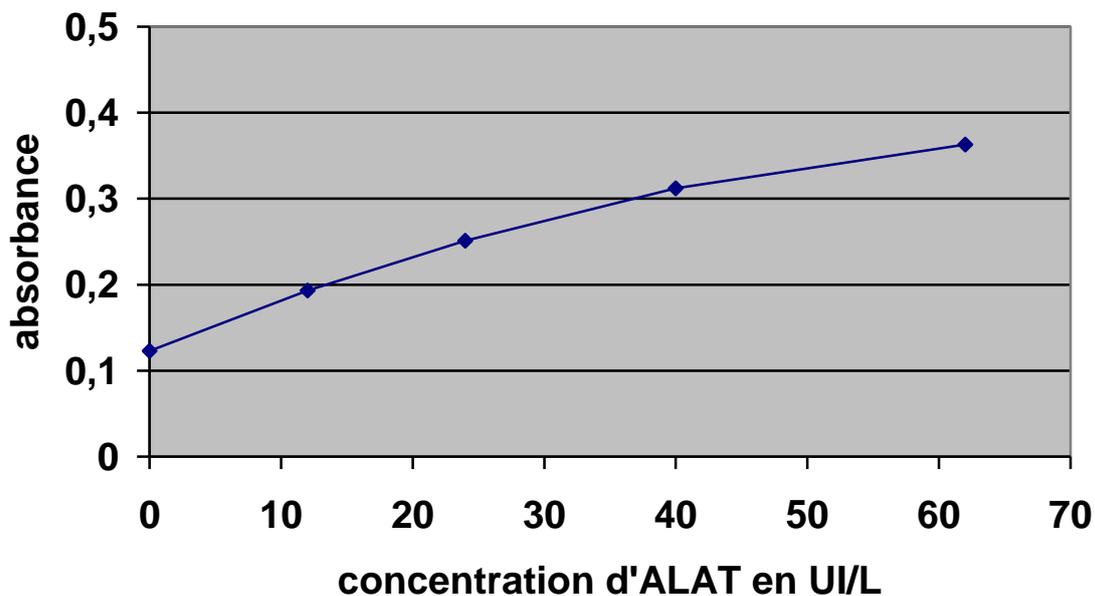
Tableau 2 : absorbances et concentrations des Calibrateur.

Calibrateur	Absorbance	Concentration du taux d'ALAT en UI/l
1	0,123	0
2	0,193	12
3	0,251	24
4	0,312	40
5	0,363	62

D'après le tableau, l'absorbance augmente de façon proportionnelle à la concentration des Calibrateurs.

Les D.O trouvées sont représentées en fonction de leur concentration, sous forme de courbe pour permettre la détermination des concentrations des échantillons inconnus, c'est ce qu'on appelle courbe d'étalonnage.

Tracé de la courbe étalon :



D.O en fonction de la concentration d'ALAT en UI/L

Les DO des échantillons inconnus sont projetées sur cette courbe pour déterminer les concentrations correspondantes en UI/L.

La linéarité est la dernière concentration de la gamme d'étalonnage après laquelle la courbe atteint le plateau.

II. Calcul du S.E.D :

Le seuil d'exclusion (S.E.D) définit comme la limite supérieure de la normale doit être calculé chez deux populations statistiquement représentatives des donneurs hommes et des donneurs femmes et après transformation logarithmique décimale des activités en UI/L les valeurs des S.E.D sont calculées par la formule suivante :

$S.E.D = 10 \text{ à la puissance de } (\text{moyenne} + 1,96 \text{ écart type}).$

La moyenne et l'écart type doivent être calculé à partir des logarithmes décimaux des valeurs de dosage des ALAT de la population représentative.

Le calcul pour 100 femmes et 100 hommes, donne les résultats suivants :

Moyenne de 100 résultats pour femmes = 24 UI/L.

$$\text{Log}(24) = 1.38$$

$$\text{L'ecart-type} = 1,75$$

$$\text{Log}(1,75) = 0.24$$

Donc le S.E.D pour les 100 femmes est :

$$\text{S.E.D.} = 10^{1.38 + (1.96 * 0.24)} = 71 \text{ UI/L}$$

Moyenne de 100 résultats pour hommes = 34 UI/L

$$\text{Log}(34) = 1.53$$

$$\text{L'ecart-type} = 1,6$$

$$\text{Log}(1,6) = 0.20$$

S .E.D pour les 100 hommes est :

$$\text{S.E.D.} = 10^{1.53 + (1.96 * 0.20)} = 85 \text{ UI/L}$$

III .Etude statistique :

Pour mettre en évidence le rôle joué par le dosage des ALAT dans la prévention contre les hépatites post transfusionnelle, une étude statistique a été menée sur 24165 donneurs de sang qui se sont présentés au CRTS de Fès entre janvier 2009 et Mai 2010.

Tableau 2 : Statistique de l'année 2009 :

Mois	Nombre des donneurs	Nombre de cas dont le taux d'ALAT > SED.
1	1563	2
2	1170	0
3	1261	1
4	1215	0
5	1377	0
6	1561	0
7	1284	0
8	1158	0
9	1400	0
10	1708	1*
11	1154	0
12	1422	1
Total	16273	5

Durant l'année 2009, 16273 échantillons ont été testés, 5 cas ayant un taux d'ALAT élevé, ce qui correspond à 0,03%.

* : Echantillon dont la concentration initiale trouvée était de 3UI /l, est un sérum ictérique.

Vu que le résultat n'est pas cohérent avec l'aspect du sérum (ictère est un signe d'ALAT pathologique), le manipulateur avait dilué le sérum pour voir si ce n'était pas dû à un effet de zone effectivement, après dilution du sérum au 1/10 le résultat obtenu en tenant compte du facteur de dilution était de 196 UI / l.

Tableau 3 : statistique de l'année 2010 :

Mois	Nombre des donneurs volontaires	Nombre de cas ayant un taux d'ALAT élevé
1	1350	0
2	1452	0
3	1692	0
4	1881	0
5	1537	1
Total	7892	1

On remarque qu'au cours de ces 5 mois de l'année 2010, les 7892 donneurs volontaires ayant tous un taux d'ALAT normal à l'exception d'un seul. Soit un taux de 0,012%.

Pour cet échantillon dont le taux d'ALAT > S.E.D. On a trouvé.

D.O = 0,42 donc une concentration de 102 UI /l.

102 > 75 (S.E.D), car il s'agit d'une femme.

Le profil sérologique de ces 6 cas ALAT > SED :

- 2 cas : Ag. HBS positifs.
- 1 cas : Ag-Ac. HCV positif correspond à l'échantillon ALAT anormale cité ci-dessus.
- 3 cas ont une sérologie négative pour Ag. HBS et Ag-Ac. HCV.

Tableau 4 : profil sérologique de ces cas ALAT > S.E.D :

Taux d'ALAT > SED	Effectif	Pourcentage %
Associé à Ag. HBS +	2	33,3
Associé à Ag-Ac. HCV +	1	16,6
Isolé	3	50

Discussion :

Parmi les 24165 échantillons traités, 6 Cas seulement ont un taux d'ALAT élevé, ce qui représente **0,024%**. Ceci signifie que la fréquence de l'hyper-transaminasémie est très rare chez les donneurs de sang du CRTS Fès témoignant en faveur d'une bonne sélection pré don.

Parmi les cas qui ont un taux d'ALAT élevé, 33,3% associent une sérologie positive pour l'Ag.HBS et 16,6% pour l'Ag-Ac. HCV soit alors 50% liée à une cause virale d'atteinte hépatique. Les 50% restants ont d'autres causes d'élévation des ALAT ce qui prouve que l'hyper-transaminasémie n'est pas obligatoirement d'origine virale et inversement, plusieurs cas d'hépatites virales B et C ont des taux d'ALAT normaux. Le travail réalisé par ma collègue Benali Karima sur le dépistage de l'hépatite C chez les donneurs de sang du CRTS Fès et qui a ciblé la même population que j'ai étudié, a mis en évidence un taux de séropositivité HCV de 0.27%. (66 cas positif parmi 24165 donneurs) donc sur ces 66 cas, seulement 1 cas présente une hyper-transaminasémie autrement dit parmi les 0,27% HCV+ 0,024 % seulement sont ALAT élevé.

L'activité sérique des ALAT est quantifiée par une méthode spectrophotométriques et comme pour tous les autres marqueurs, cette technique utilisée pour ce dosage doit être durement validée par l'utilisation du contrôle quotidien internes propre au laboratoire, car les réactif peuvent perdre leurs caractéristiques, parmi les réactifs témoins utilisés pour chaque série de dosage, un d'entre eux doit avoir un taux d'ALAT compris entre le S.E.D femme et le S.E.D hommes. La fiabilité de cette technique est prouvée par les témoins internes.

Conclusion :

La performance des tests sérologique actuels semble enlever au dosage de transaminase son intérêt dans la sécurité transfusionnelle. Ce test avait plus d'intérêt quand il dépistait plus de cas d'hyper-transaminasémie que les cas séropositifs quand les générations des réactifs utilisés antérieurement étaient moins sensibles ou lorsqu'il était utilisé en tant que marqueur d'atteinte hépatique avant l'apparition des test de dépistage sérologique, bien que les donneurs qui seraient éliminés pour ALAT n'aient pas tous une sérologie positive pour l'hépatite B ou C....

Les alanine-aminotransférases (ALAT) ne sont plus considérées aujourd'hui comme un marqueur spécifique et pertinent d'infections virales et il est donc conseillé de ne plus les retenir dans les critères *virologiques* de qualification des organes, tissus et cellules. Par mesure de sécurité, ce test constitue un verrou supplémentaire à la sécurité transfusionnelle car une hyper-transaminasémie même minime doit toujours faire l'objet d'inquiétude et de curiosité pour savoir les causes. L'hypothèse qu'il puisse y avoir une autre forme d'hépatite virale non A, non B , non C, non D ,non E ,non G... , non encore découverte n'est pas à exclure. L'essentiel c'est que toute atteinte hépatique mise en évidence par un marqueur biologique donné, doit remettre en cause la qualité du don en question qui sera éliminé par mesure de sécurité transfusionnelle.

Références bibliographiques :

- (1) Capron JP., 2010. Conduite à tenir devant une augmentation prolongée des transaminases sériques CHU. Amiens GIP de télémédecine de péricardie.
- (2) Cours de biochimie CHU. Jusieu métabolisme général des acides aminés.
- (3) Dienststag JL., 1993. NA-nb hepatitis: Recognition epidemiology and clinical Features, gastroenterology. , 85, 439- 462.
- (4) Mars –Avril 1998., Hépatogastro, démarche diagnostique européen Journal of dermatology.
- (5) P. Godeau ., S Hersons ., Piet. Traite. , 1997 .Hépatite aiguë médicamenteuse, hépatite aiguë toxique, hépatite alcoolique. In : de médecine interne 3^e édition paris : Flammarion. 288, 1164-66.
- (6) In : Godeau P., Sherson., Charles J Piette. Hépatites aiguës virales, traité de médecine interne 3^e édition. Paris : Flammarion ., 288, 1159-63.
- (7) IN : D. Vital Durant ., M. Sibille . Interprétation d'une hypertransaminasémie modérée, Diagnostics difficiles en médecine interne. Vol. 4. Paris : Maloine, 103-9.
- (8) 1993. Loi n° 93-5 du 4 janvier ., relative à la sécurité en matière de transfusion sanguine et de médicament. Journal officiel français.
- (9) C. Massart ., 2009. Marqueurs cardiaques département de biochimie et biologie moléculaire université de Rennes.
- (10) Bircher J ., Mrizette ., 24 Avril 2006. Quotidien médecin, Hépatologie clinique 2^e édition médecine sciences flammarion ., N°266 A et B.
- (11) Andren Le Treut. , 2009, faculté de médecine Rennes.
- (12) 1997 -2000. , Rapports annuels du comité d'hémovigilance.
- (13) Version 2009. Référentiel technique et bonnes pratiques transfusionnelles.
- (14) Rieux C ., Nguyen L ., 2002. Hémovigilance : Bilan et perspective Hématologie mini revue. ,8, 151-9.
- (15) Russell O. Brier., 1988. Serum ALAT levels effect of sex, race and obesity ou unit rejection rate. Transfusion., 28, 392-9.
- (16) Schum G et Al., 2002. IFCC primary reference procedures for the measurement of catalytic activity concentration of enzyme at 37°C part 4. Reference procedures for the measurement of catalytic activity concentration of alanine aminotransferase. Clin chem. Lab Med.

- (17) Sherman Ke., 1991. Alanine aminotransferase in clinical practice areview, arch intern med.,151, 260-5.
- (18) Vincent Farm 130, biochimie médicale.
- (19) IN Siest J., Henny J., Schielen., S.Reference Vincent-Viry., 1990. M.alanine aminotransférase en biologie clinique Paris .,123-38.
- (20) Yang R., G .Blaileanu ., Hansen Colombie-Britanique., 2002. Shuldiner AR et gong DW Génomique pub Med.
- (21) Karmen A et al. , J Clin Invest ., 1955; 24 :126.