

République Algérienne Démocratique Et Populaire

Ministre De L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Mohamed Kheider Biskra



Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la nature et de la vie

Département : Sciences de la nature et de la vie

Option : Biochimie et Biologie Moléculaire

Mémoire de fin d'étude Pour l'obtention du Diplôme de

MASTER

# THEME

## Activité hémolytique de quelques médicaments injectable

L'étudiant :

**BABAOUSMAIL Salah**

Devant le jury :

**Encadreur : TRABSA Hayat**

**Président : AOURAGH Hayat**

**Examineur : BEN SLAMA Abderrahim**

Promotion juin 2014

## Remerciements

*J'exprime tout d'abord, mes profonds remerciements et louanges à ALLAH tout puissant, qui m'a guidé sur le droit chemin et m'a donné le courage et la volonté d'achever ce travail.*

*Mes remerciements vont particulièrement à:*

*M<sup>lle</sup> TRABSA Hayat, enseignante dans le département des sciences de la nature et de la vie de l'université de Biskra d'avoir bien voulu diriger ce travail et pour tous ses conseils fructueux et ses encouragements*

*Tous d'abord les membres du jury pour leur investissement dans l'évaluation de cette mémoire*

*Remercie les ingénieurs de laboratoire de département des sciences de la nature et de la vie*

*Remercie le pharmacien de la clinique des oasis Ghardaia pour leur aide  
J'adresse aussi mes plus vifs remerciements à ma famille, qui est toujours soutenu et encouragé dans la voie que je n'étais fixée*

*Remercie aussi tous mes amis et mes collègues et la promotion 2014*

*Je tiens à remercier beaucoup de personnes, ceux-là même qui m'ont de près ou de loin aidé dans la réalisation de ce travail*

## DEDICACES

*Je dédie ce modeste travail à*

*Ma défunte mère qui a toujours souhaité que je réussisse dans mes études. Je prie le  
tout puissant ALLAH pour le repos de son âme, amen*

*Mon père qui m'a énormément aide dans ma vie avec ses conseils et sa sagesse*

*Ma chère femme pour son affectation et sa tendresse et ses encouragements*

*Mes frères et mes sœurs et toute ma famille pour leur amour*

*leur soutien et leurs encouragements tout au long de mes études*

*Tous ceux qui contribué à atteindre ce modeste travaille*

*de prés ou de loin, même d'un bon mot.*

*Tous mes amies, toute la promotion 2013/2014*

## *Sommaire*

RESUME.....	i
LISTE DES ABREVIATIONS.....	ii
LISTEDES FIGURES .....	iii
LISTE DES TABLEAUX.....	iv
INTRODUCTION.....	1

### ***BIBLIOGRAPHIQUE***

<b>1. Généralité sur le sang.....</b>	<b>2</b>
<b>1.1. Définition .....</b>	<b>2</b>
<b>1.2. Les fonctions du Sang.....</b>	<b>2</b>
<b>1.3. Les différentes constitutions globales du sang.....</b>	<b>2</b>
<b>1.3.1. Les globules rouges .....</b>	<b>2</b>
<b>1.3.2. Réticulocytes.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3.3. Les globules blancs.....</b>	<b>3</b>
<b>1.3.4. Les plaquettes.....</b>	<b>4</b>
<b>1.3.5. Le plasma.....</b>	<b>4</b>
<b>1.4. Morphologie normale et la forme pathologique du globule rouge .</b>	<b>5</b>
<b>1.4.1. Morphologie normale.....</b>	<b>5</b>
<b>1.5. Les formes pathologiques du globule rouge.....</b>	<b>5</b>
<b>1.5.1. Anomalies de taille .....</b>	<b>5</b>
<b>1.5.2. Anomalies de forme .....</b>	<b>6</b>
<b>1.5.3. Coloration.....</b>	<b>6</b>
<b>1.5.4. Inclusions.....</b>	<b>6</b>
<b>1.6. La Fonction des globules rouges.....</b>	<b>6</b>
<b>1.7. La production des érythrocytes (érythropoïèse).....</b>	<b>7</b>



1.8.	La membrane du globule rouge .....	7
1.9.	Durée de vie des globules rouge.....	8
2.	L'hémolyse.....	9
2.1.	Hémolyses mécaniques (ou par fragmentation) .....	9
2.2.	Hémolyses de cause infectieuse .....	10
2.2.1.	Protozoaires.....	10
2.2.1.1.	Paludisme .....	10
2.2.1.2.	Babésiose .....	10
2.2.1.3.	Trypanosomiase africaine « maladie du sommeil » .....	10
2.2.2.	Bactéries .....	11
2.2.2.1.	Infection à Clostridium perfringens .....	11
2.3.	Hémolyses liées à des troubles métaboliques .....	11
2.3.1.	Hypercuprémie : Maladie de Wilson .....	11
2.3.2.	Hypophosphatémie .....	11
2.4.	Hémolyses dues aux agents chimiques .....	12
2.4.1.	Agents oxydants .....	12
2.4.1.2.	Médicaments .....	13
2.4.2.	Métaux lourds .....	13
2.4.2.1.	Hydrogène arsénié (AsH <sub>3</sub> ) .....	13
2.4.2.2.	Cuivre .....	13
2.4.2.3.	Plomb.....	13
2.4.3.	Venins d'animaux .....	14
2.4.4.	Champignons Vénéneux .....	14
2.5.	Hémolyses dues aux agents physiques.....	14
2.5.1.	Eau.....	14
2.5.2.	Chaleur et brûlures étendues.....	15

2.6.	Hypersplénisme.....	15
2.7.	Effets de ph.....	15
2.8.	L'hémolyse osmotique et la fragilité osmotique.....	16

## **MATERIEL ET METHODE**

3.	Matériel et Méthode.....	17
3.1.	Matériel.....	17
3.1.1.	Erythrocytes.....	17
3.1.2.	Tampon PBS (phosphate buffer saline).....	17
3.1.3.	Appareillage.....	17
3.2.	Méthode.....	17
3.2.1.	Préparation de la plaque multipuits à 96 puits.....	17

## ***RESULTATS ET DISCUSSION***

4.	Résultats et Discussion.....	19
----	------------------------------	----

<b>CONCLUSION.....</b>	<b>24</b>
------------------------	-----------

<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>25</b>
---	-----------

<b>ANNEXES.....</b>	<b>27</b>
---------------------	-----------

Annexe 01.....	27
----------------	----

Annexe 02.....	28
----------------	----

Annexe 03.....	30
----------------	----





**Liste des tableaux**

Tableau1 : Agents chimiques ou médicaments pouvant être responsables d'hémolyse  
toxique.....12

**Liste des figures**

Figure 1: Frottis de sang normal coloré au May-Grünwald-Giemsa ..... 03

Figure 2 : Les différentes formes des globules blancs ..... 04

Figure 3 : Taux d'hémolyse des globules rouges normaux, sous l'effet de Diclofénac ..... 19

Figure 4 : Taux d'hémolyse des globules rouges normaux, sous l'effet de Heparine ..... 20

Figure 5 : Taux d'hémolyse des globules rouges normaux, sous l'effet de Ranitidine ..... 20

**Liste des abréviations**

<b>ADN:</b>	Acide Désoxyribonucléique
<b>ARN :</b>	Acide Ribonucléique
<b>AsH<sub>3</sub>:</b>	Hydrogène arsenié
<b>ATP:</b>	Adénosine Triphosphate
<b>DPG:</b>	Diphosphoglycérate
<b>EPO:</b>	Erythropoïétine
<b>GPI:</b>	Glycophosphatidyl
<b>GR:</b>	Globule Rouge
<b>G6PD:</b>	Glucose-6-Phosphate Déshydrogénase
<b>Hb:</b>	Hémoglobine
<b>INS :</b>	Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens
<b>LDH:</b>	Lactate déshydrogénase
<b>MGG:</b>	May-Grünwald-Giemsa
<b>PBS :</b>	Buffer phosphate de sodium
<b>RBC:</b>	Red Blood Cell
<b>RGO :</b>	Reflux Gastro-œsophagien
<b>SCF:</b>	Stem Cell Factor
<b>UGD :</b>	Ulcère Gastro-duodéal
<b>UMP :</b>	Uridine Monophosphate
<b>VGM:</b>	Volume globulaire moyen
<b>V<sub>i</sub>:</b>	Volume initial
<b>V<sub>c</sub>:</b>	Volume critique

## **Introduction**

Le sang est un tissu particulier de l'organisme. Il remplit d'importantes fonctions telles que le transport de nombreuses substances (nutriments, produits métaboliques, vitamines, électrolytes, ...), le transport de chaleur (thermorégulation), la transmission des signaux hormonaux. Il joue également le rôle de système tampon et permet la bonne marche du système immunitaire. Ces fonctions sont réparties entre le plasma qui constitue la phase aqueuse du sang et les cellules sanguines dont les globules rouges font partie. Ces cellules sont produites de façon continue au cours de l'érythropoïèse.

Après environ 120 jours les érythrocytes sénescents sont retirés de la circulation par les phagocytes mononucléés, puis détruits au niveau de la rate..., ce phénomène est accompagné par la production de nouveaux érythrocytes ; l'hémolyse représente les changements quantitatifs de protéines de la membrane érythrocytaire qui peuvent indiquer la déficience cytosquelette de globules rouges. Cela peut être causé par de nombreux composés chimiques (médicaments, produits toxiques, les infectants...).

Le but de cette étude est d'analyser le comportement hémolytique des globules rouges, l'analyse de la cinétique de l'hémolyse nous a permis d'examiner ce comportement ; la méthode est basée sur la mesure de la lumière absorbée ( $\lambda = 630 \text{ nm}$ ) à  $37^\circ\text{C}$ , dispersée par une suspension de globules rouges, soumis à l'échantillon. L'absorbance en fonction du temps, qui décrit la cinétique de lyse, Le paramètre  $T_{\text{max}}$  (Le temps où le nombre maximal des cellules sont hémolysées), et  $\%_{\text{max}}$  (Le pourcentage des érythrocytes hémolysés à  $T_{\text{max}}$ ). Il est aussi intéressant de retirer  $HT_{50}$  le temps correspondant à 50% d'hémolyse.

Les médicaments injectables en question font-ils partie des produits provoquant l'hémolyse ? Quel pourcentage d'hémolyse peut être atteint.. ? à quel seuil les globules rouges résistent-elles à l'effet de ces produits.. ?

## **1. Généralité sur le sang**

### **1.1. Définition**

Tous les organes dans le corps dépendent de la fonction normale du sang. Le sang transporte et livre oxygène et autres substances essentielles et des nutriments à tous les organes, élimine les déchets du métabolisme et défend l'organisme contre les infections par l'intermédiaire de la réaction inflammatoire. En plus de transporter des substances essentielles dans tout le corps, sang peut être affecté par un certain nombre de médicaments et substances chimiques. Ces médicaments peuvent modifier ou altérer l'hémoglobine, diminuer la production de globules ou augmenter la destruction des cellules du sang (Moreno and Wiegand, 2014).

### **1.2. Les fonctions du Sang**

Parmi les fonctions du sang, il faut citer le transport de nombreuses substances ( $O_2$ ,  $CO_2$ , substances nutritives, produits métaboliques, vitamines, électrolytes, etc.), le transport de chaleur (réchauffement, refroidissement), la transmission des signaux (hormones), le pouvoir tampon ainsi que la défense de l'organisme contre les substances étrangères et les micro-organismes (Silbernagl and Despopoulos, 2001).

### **1.3. Les différentes constitutions globales du sang**

#### **1.3.1. Les globules rouges**

Globules rouges occupent normalement environ 45 % du volume sanguin total. Il s'agit de l'hématocrite. La moyenne des globules rouges sont de  $5,4 \times 10^{12}$ / litre chez les hommes et  $4,5 \times 10^{12}$ / litre chez la femme. Chaque RBC est une disque biconcave (Figure 1), qui a un diamètre moyen de  $7,2 \mu m$  et  $2 \mu m$  d'épaisseur sur ses bords. Globules rouges n'ont pas des organites intracellulaires. La forme de la RBC est physiologiquement importante, parce qu'il maintient un rapport de haute surface : volume, ce qui facilite la diffusion transmembranaire. La forme de la RBC, ainsi que la souplesse considérable de sa membrane plasmique, permet aussi la cellule à flux et déformer, qui est souvent nécessaire, car il traverse les capillaires (Minors, 2004).



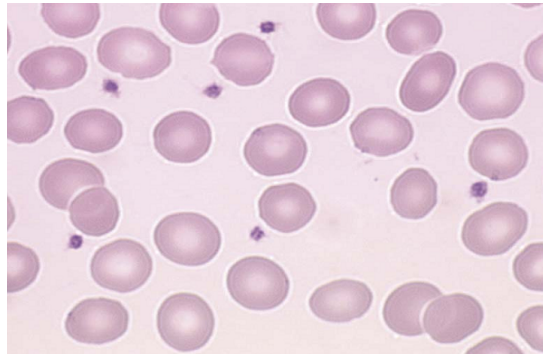


Figure 1 Frottis de sang normal coloré au May-Grünwald-Giemsa (MGG). Grossissement  $\times$  1000. Globules rouges normaux par leur taille, leur colorabilité et leur forme (Valensi, 2005).

### **1.3.2. Réticulocytes**

Il s'agit de « jeunes globules rouges » dont la quantification est nécessaire à la compréhension du mécanisme d'une anémie et permettra d'en apprécier le caractère régénératif ou non. Le réticulocyte est issu d'un érythroblaste acidophile qui vient d'expulser son noyau. Il reste 1 à 2 jours dans la moelle, puis circule 1 à 2 jours dans le sang avant de devenir un globule rouge mûre. Il se distingue de celui-ci par la persistance de diverses organelles, en particulier de l'acide ribonucléique (ARN) ribosomique qui n'est pas visible au MGG. Certains colorants, tels le bleu de crésyl brillant ou le bleu de méthylène nouveau, en se fixant sur l'ARN, forment un précipité d'aspect réticulé, visible au microscope (Valensi, 2005).

### **1.3.3. Les globules blancs**

Globules blancs ou leucocytes, sont moins abondantes dans le sang que les érythrocytes, leur fonction consiste à défendre l'organisme contre les agents pathogènes et d'éliminer les cellules endommagées, toxines et autres déchets (Ashton, 2013).

Les différentes catégories de globules blancs (Figure 2) contribuent de différentes manières ; neutrophiles sont principalement liés à la première ligne de défense contre les bactéries par directement phagocytants et tuer les micro-organismes, alors que les lymphocytes sont impliqués dans la production des réponses immunitaires spécifiques et ont un rôle plus stratégique (Cavenagh, 2007)

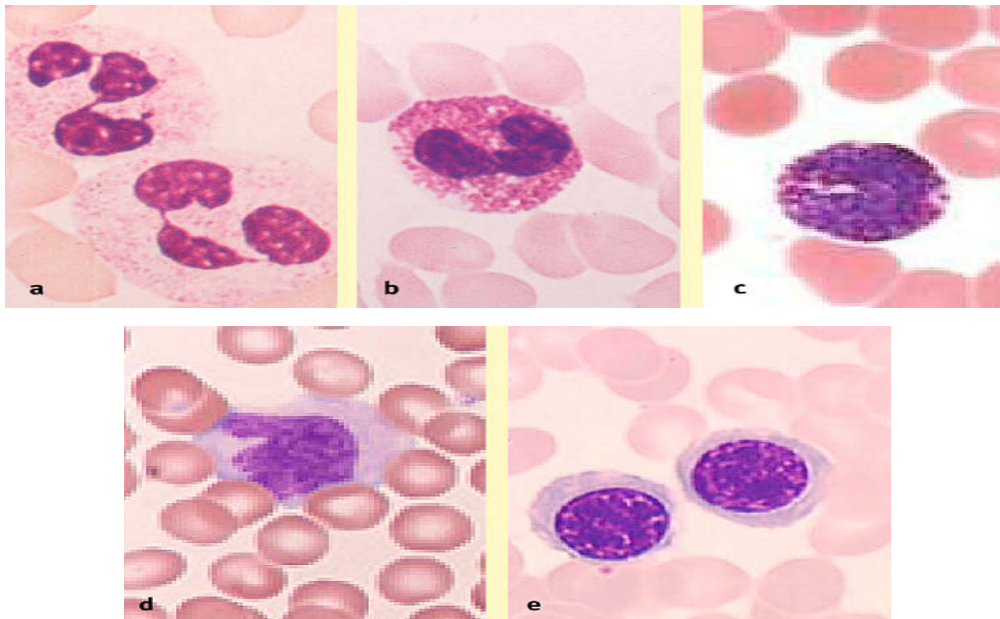


Figure 2 Les différents forme des globules blancs ; **a** neutrophiles, **b** éosinophile, **c** basophile, **d** monocyte, **e** lymphocytes (Gordon-Smith, 2009)

#### **1.3.4. Les plaquettes**

Elles se présentent sous la forme d'éléments arrondis de petite taille, de 1 à 2  $\mu\text{m}$  de diamètre, à contours irréguliers, de coloration gris clair, parsemés de fines granulations rosées. La présence de quelques plaquettes de taille plus grande (7  $\mu\text{m}$  de diamètre) n'est pas exceptionnelle, celles-ci correspondent à de jeunes plaquettes. Sur un frottis prélevé au bout du doigt (sans anticoagulant) les plaquettes ont tendance à former des agrégats (Valensi, 2005).

La durée de séjour des plaquettes dans le sang est de 8 à 10 jours et le temps de transit médullaire des mégacaryocytes est de 8 jours (Valensi, 2005).

#### **1.3.5. Le plasma**

Le plasma constitue la phase aqueuse du sang. Son osmolarité est d'environ 290 mosm/l (Silbernagl et Despopoulos, 2001). Il contient des sels minéraux et des composants organiques (incluant des acides aminés, des lipides, des vitamines, des protéines et des hormones). En l'absence d'anticoagulants, les éléments cellulaires du sang forment, avec les protéines plasmatiques (principalement le fibrinogène), un caillot dans le tube de prélèvement. La partie liquidienne est appelée sérum et correspond essentiellement à du plasma dépourvu de fibrinogène (Kierszenbaum, 2006).

## **1.4. Morphologie normale et la forme pathologique du globule rouge**

### **1.4.1. Morphologie normale**

Globules rouges ou érythrocytes, sont des disques biconcaves qui sont essentiels pour l'échange gazeux (Peter Klinken, 2002). Les globules rouges (GR) sur frottis ont une forme circulaire, une taille uniforme avec un diamètre moyen de 8µm (de très petites variations de taille ou de forme sont observées normalement), une coloration gris rosé avec un centre plus clair qui se fond graduellement à un anneau périphérique plus coloré. L'observation des globules rouges, corrélée aux autres paramètres fournis par l'automate (volume globulaire moyen, concentration corpusculaire moyenne en hémoglobine, teneur corpusculaire moyenne en hémoglobine, indice de distribution des globules rouges), ainsi qu'au type de l'alarme, est particulièrement utile lors d'une anémie car certaines anomalies peuvent avoir une valeur diagnostique ou aider à la compréhension du mécanisme de cette anémie. Les éléments d'analyse principaux sont la taille, la colorabilité et la forme, complétés par la recherche d'inclusions intraérythrocytaires. La présence d'agglutinats de globules rouges ou du phénomène des rouleaux donnent des indications supplémentaires. La durée de séjour des globules rouges dans le sang est de 120 jours en moyenne et le temps de transit médullaire des érythroblastes est de 5/6 jours (Valensi, 2005).

## **1.5. Les formes pathologiques du globule rouge**

### **1.5.1. Anomalies de taille**

L'anisocytose indique une hétérogénéité de taille des hématies examinées. Elle est causée par des modifications dans la production des hématies et par la transfusion de culots globulaires. Une microcytose ou une macrocytose désigne de façon plus précise les anomalies observées. La microcytose se définit par la présence d'hématies de taille diminuée avec un volume globulaire moyen (VGM) abaissé elle résulte en général d'un défaut de synthèse de l'hémoglobine et se rencontre au cours des anomalies du métabolisme du fer. A l'inverse, la macrocytose est caractérisée par des hématies de diamètre augmenté. Elle est en général reliée à une anomalie de synthèse de l'ADN [carence en vitamine B12, acide folique, déficit en uridine monophosphate (UMP) synthétase] (Fenneteau and Maier-Redelsperger, 2000).

### **1.5.2. Anomalies de forme**

Le terme de poikilocytose indique la présence sur les frottis d'hématies de formes très variées : arrondies, ovalaires, en massue, en raquette .... Elle résulte de différentes causes et peut se rencontrer au cours d'anémies de mécanismes variés (carence en fer, thalassémie, ...) (Fenneteau and Maier-Redelsperger, 2000).

### **1.5.3. Coloration**

L'hypochromie est définie par la présence d'hématies de teinte plus pâle que la normale, en rapport avec une diminution de la concentration en hémoglobine. Le terme d'annulocyte ou leptocyte désigne les hématies où seule la périphérie de la cellule semble colorée, ce qui peut être dû à la diminution en hémoglobine ou au contraire à l'augmentation de la surface de la membrane. La présence d'hématies de teinte foncée et homogène traduit l'existence de cellules hyperdenses, déshydratées, à concentration en hémoglobine élevée. Cet aspect est observé dans la sphérocytose héréditaire.

La polychromatophilie correspond à la présence d'hématies de teinte légèrement gris-bleue et de taille augmentée. Ce sont de jeunes hématies contenant des résidus d'ARN (Fenneteau and Maier-Redelsperger, 2000).

### **1.5.4. Inclusions**

Les inclusions intra-érythrocytaires sont absentes du globule rouge normal. Elles apparaissent au cours de certaines pathologies, certaines sont décelables au MGG, d'autres seulement après des colorations spéciales (Fenneteau and Maier-Redelsperger, 2000).

## **1.6. La Fonction des globules rouges**

La fonction des globules rouges est de porter le taux d'hémoglobine (Hb) autour du corps dans une concentration suffisamment élevée pour permettre un transport efficace de l'oxygène des poumons vers les tissus et le retour de dioxyde de carbone vers les poumons. Dans ce but, globules rouges besoin une surface suffisamment grande pour l'échange de gaz rapide (la forme de disque biconcave), une structure facilement déformable à traverser le lit capillaire et une source d'énergie pour maintenir cette structure et fournir le milieu interne nécessaire pour l'hémoglobine fonctionnelle (Gordon-Smith, 2009). Les principales fonctions des érythrocytes sont

le transport de l'oxygène et de dioxyde de carbone et de l'élimination des protons formés au cours du métabolisme tissulaire. À ce propos, les canaux anioniques transfèrent acide et base équivalents à travers leurs membranes comme un équimolaire diffusion d'échange d'anions (Fenneteau and Maier-Redelsperger, 2000).

### **1.7. La production des érythrocytes (érythropoïèse)**

L'hématopoïèse permet de générer des globules rouges matures à partir de cellules souches pluripotentes présentes dans la moelle osseuse. Celles-ci se logent dans une « niche hématopoïétique », au contact d'une part des cellules osseuses, principalement des ostéoblastes qui produisent des facteurs capables de contrôler l'auto-renouvellement des cellules souches, d'autre part des vaisseaux qui permettent le passage dans le sang des érythrocytes matures. L'érythropoïèse est contrôlée par des mécanismes de régulation paracrines et endocrines impliquant des cytokines comme le Stem Cell Factor (SCF) et l'érythropoïétine (EPO) (Hermine and Romet, 2011).

### **1.8. La membrane du globule rouge**

La membrane du globule rouge est une bicouche de phospholipides, stabilisée avec des quantités équimolaires de cholestérol (Gordon-Smith, 2009). Contient environ 52% de protéines, 40% de lipides et 8% de carbohydrates, La quantité totale de lipides érythrocytaires est d'environ 5mg pour  $10^{10}$  cellules, dont 60% de phospholipides, 25% de lipides neutres (essentiellement du cholestérol) et 15% de glycosphingolipides (Cartron and Salmon, 1978). Les principaux phospholipides sont phosphatidyl groupes liés à l'éthanolamine, inositol, sérine ou choline (lécithine) et la sphingomyéline. La bicouche lipidique fournit un milieu stable pour les protéines de la membrane. Les protéines déterminent la forme et la souplesse du globule rouge. Protéines membranaires peuvent être attachées à la surface externe de la membrane par l'intermédiaire de domaines membranaires ou par l'ancre d'inositol (GPI) glycoposphatidyl. Des protéines transmembranaires, par exemple les protéine bande 3, ont plasma et domaines cytoplasmiques. Domaines externes comprennent les groupes sanguins, sites pour les complexes immuns et les parties externes des canaux transmembranaires de liaison et de signalisation des protéines. Les principales protéines du cytosquelette sont spectrine, actine, protéine 4.1 et ankyrin les deux chaînes de vent de la spectrine ( $\alpha$  et  $\beta$ ) autour de l'autre à forme hétérodimères, qui

sont liés de bout en bout par actine, protéine 4.1 et d'autres protéines pour former un réseau de tétramères sur la surface de la membrane interne (Gordon-Smith, 2009).

### **1.9. Durée de vie des globules rouge**

Après environ 120 jours, les érythrocytes sénescents sont retirés de la circulation par les phagocytes mononucléés dans la rate, le foie et la moelle osseuse. Les événements moléculaires qui déclenchent la mort des érythrocytes ne sont pas totalement compris, mais impliquent changements dans la membrane cellulaire qui sont reconnus par les phagocytes. L'érythrocyte est catabolisée, au cours de laquelle l'hème est dissocié les chaînes de la globine, l'hème est oxydé par hème oxydase, ouverture vers le haut de la structure porphyrine pour donner l'ion  $Fe^{2+}$  qui est recyclée par la transferrine où il est incorporé à une nouvelle molécule d'hémoglobine. Le reste de l'hème est converti en biliverdine, qui est ensuite transformé en bilirubine, ce qui est jaune-orange en couleur. Bilirubine lié à l'albumine est transportée vers le foie où il est excrété dans l'intestin par l'intermédiaire de la voie biliaire. La typique teinte jaune de la peau et les yeux vu contre la jaunisse se pose ainsi d'une accumulation de bilirubine dans le plasma, soit à la suite d'une biliaires bloqués ou ayant une déficience de la fonction hépatique (Ashton, 2013).

## **2. L'hémolyse**

L'érythrocyte doit traverser de nombreux capillaires petits au cours de sa durée de vie de 120-130 jours. La viabilité des érythrocytes dépend donc de sa capacité à subir des déformations drastiques sans rupture de la membrane cellulaire. Ces propriétés des érythrocytes sont déterminées par le rapport de volume surface excédentaire et par les propriétés élastiques de la membrane cellulaire qui lui permet de subir ces déformations sans lyse (Araki and Rifkind, 1981).

Hémolyse représente la rupture ou la perturbation de l'intégrité des membranes des érythrocytes causant la libération de l'hémoglobine. Hémolyse des globules rouges unités se produit au cours de la préparation des composants, ainsi que pendant le stockage, question et le transport du patient. Hémolyse dans le sang produit se manifeste généralement par la présence de libre hémoglobine dans l'hématie suspendant des médias, tels que solutions de plasma ou d'additif.

Conservation des globules rouges provoque une augmentation progressive hémolyse. L'étendue de l'hémolyse peut être estimée par diverses techniques, évaluation visuelle étant les plus commune. D'autres incluent des analyses spectrophotométriques, technique microplaque méthode photométrique (Makroo *et al.*, 2010)

Ce phénomène se traduit biologiquement par l'augmentation du taux de réticulocytes. L'éclatement des hématies libère un certain nombre de constituants biologiques dont la concentration augmente dans le plasma : il s'agit principalement de la bilirubine non conjuguée dite « libre » ou « indirecte » et d'une enzyme, la lactate déshydrogénase (LDH). Par ailleurs, l'hémoglobine expulsée dans le plasma se couple à une protéine circulante, l'haptoglobine, dont le taux baisse proportionnellement à ce degré de libération. On observe également la chute du taux d'une autre protéine qui est une bêtaglobuline se fixant spécifiquement à l'hème et qui est beaucoup moins souvent dosée (Bauduer, 2000).

### **2.1. Hémolyses mécaniques (ou par fragmentation)**

Les hémolyses mécaniques (ou par fragmentation) surviennent, soit à la suite de l'éclatement des hématies dans le torrent circulatoire du fait de chocs directs sur des obstacles ou de turbulences excessives induites par diverses anomalies des parois

cardiaques ou des gros vaisseaux (macroangiopathies), soit consécutivement au passage des globules rouges au contact de travées de fibrine intravasculaires (microangiopathies). Ces agressions physiques vont déclencher également une déformation de la membrane érythrocytaire, puis sa rupture, expliquant la présence d'hématies de morphologie altérée : les schizocytes (Bauduer, 2000).

## **2.2. Hémolyses de cause infectieuse**

### **2.2.1. Protozoaires**

#### **2.2.1.1. Paludisme**

Le paludisme représente un des grands fléaux de l'humanité, avec plusieurs centaines de millions d'individus infestés en zone intertropicale. Le parasite hébergé par l'érythrocyte au cours de son cycle évolutif provoque une anémie, mais a également un impact sur les lignées leucocytaires (neutrophiles, monocytes, éosinophiles, lymphocytes) et plaquettaires. Il n'y a pas de sphérocytes ou de schizocytes. Sur lame, on peut parfois observer la formation de rouleaux, favorisée par l'hypergammaglobulinémie secondaire à l'infestation chronique. Les globules rouges parasités présentent les aspects classiques bien connus des parasitologistes (Bauduer, 2009).

#### **2.2.1.2. Babésiose**

Les *Babesia* sont comme les *Plasmodium* des hématozoaires parasitant les globules rouge. La babésiose est une infection rare chez les humains, pouvant être véhiculée par les tiques (sujets vivant au contact du bétail) ou plus exceptionnellement par une transfusion sanguine provenant d'un donneur dont l'infection n'était pas connue. Les signes cliniques et biologiques comprennent une anémie hémolytique avec fièvre, hémoglobinurie et hyperleucocytose (Bauduer, 2009).

#### **2.2.1.3. Trypanosomiase africaine « maladie du sommeil »**

Les parasites *Trypanosoma gambiense* ou *rhodesiense*, à l'origine de la « maladie du sommeil », peuvent induire une anémie hémolytique dont le mécanisme est mixte : atteinte toxique directe liée au protozoaire et destruction des hématies via la production d'anticorps (Bauduer, 2009).



## **2.2.2. Bactéries**

### **2.2.2.1. Infection à *Clostridium perfringens***

Les cinq sous-types de ce bacille Gram positif anaérobie (A à E) produisent 12 toxines différentes dont quatre induisent des réactions potentiellement létales. Il peut également s'associer à une pathologie des voies biliaires, à une surinfection de blessure. L'hémolyse est rapide et massive, en réponse à l'action conjuguée de l'antigène de Thomsen-Friedenreich (ATF) et de deux toxines : phospholipase C et neuraminidase. L'hémolyse extrêmement intense induite par ce microorganisme est objectivée dans certains cas par un hémocrite proche de 0 % (Bauduer, 2009).

## **2.3. Hémolyses liées à des troubles métaboliques**

### **2.3.1. Hypercuprémie : Maladie de Wilson**

Le cuivre accélère l'oxydation de l'hémoglobine, inactive certaines enzymes intraérythrocytaires et endommage la membrane des hématies. L'hypercuprémie est le stigmate principal de la maladie de Wilson et la responsable de l'hémolyse, observée en général dans les premiers temps de la maladie, avant l'apparition des manifestations patentes hépatiques ou neurologiques. Le cuivre est libéré massivement par le foie où il s'est accumulé. L'hémolyse apparaît de façon discontinue, avec des degrés variables de gravité. Le diagnostic biologique repose sur la constatation d'une baisse de la céruléoplasminémie et d'une excrétion accrue de cuivre dans les urines. Une enquête familiale doit être effectuée car cette affection est de transmission autosomique récessive. Le traitement repose sur la D-pénicillamine. Dans les formes fulminantes, les échanges plasmatiques peuvent permettre de réduire rapidement le taux de cuivre circulant (Kiss *et al.*, 1998).

### **2.3.2. Hypophosphatémie**

Lorsqu'il existe un déficit important en phosphore du fait de l'administration prolongée d'une nutrition parentérale ou d'antiacides ou lors d'un éthylyisme important, il apparaît une baisse importante de l'adénosine triphosphate (ATP) et du 2,3-diphosphoglycérate (2,3 DPG) intraérythrocytaires. Ceci provoque une réduction de la déformabilité membranaire de l'hématie (sphérocytose) qui accélère sa destruction (Jacob and Amsden, 1971).

## **2.4. Hémolyses dues aux agents chimiques**

### **2.4.1. Agents oxydants**

Il s'agit des composés (médicaments, produits domestiques ou industriels) responsables d'hémolyse chez les sujets déficitaires de glucose-6-phosphate déshydrogénase (G6PD) lorsque les doses d'exposition sont trop élevées (Tableau 1). L'oxydation de l'Hb conduit à la formation des corps de Heinz (Bauduer, 2009).

(Tableau 1) Agents chimiques ou médicaments pouvant être responsables d'hémolyse toxique (Bauduer, 2009).

Agents oxydants et toxines
Composés présentant un cycle aromatique
- sulfonamides (antibiotiques de type sulfamide, sulfonylurées : antidiabétiques, acétazolamide)
- sulfones (ex : dapsone)
- phénazopyridine
- nitrofurantoïne
- salicylates
- phénol
- crésol (huiles pénétrantes)
- naphthaline (antimites)
- nitrobenzène
- résorcine (antiseptique)
- aniline
- phénylsemicarbazide
Chlorates (acide chlorique : herbicide)
Nitrates
Oxygène
Hydroxylamine
Bleu de méthylène (nourrissons)
Agents non oxydants
-Hydrogène arsenié ( $AsH_3$ )
-Plomb
-Cuivre
-Glycérol (IV)
-Éthylène bis dithiocarbamate de zinc
-Eau

#### **2.4.1.2. Médicaments**

Il s'agit en général de composés à caractère oxydant conduisant à la formation de corps de Heinz, témoins de la précipitation de l'hémoglobine, et à l'apparition d'une sulfhémoglobinémie et d'une méthémoglobinémie. La molécule la plus impliquée a été la phénacétine, qui entraine dans la composition d'un grand nombre de médicaments à visée analgésique. Les produits à base de phénacétine ne sont plus commercialisés en France depuis plusieurs années. On peut également citer les sulfamides, les sulfones (dapsones)... L'hémolyse est dose-dépendante et son seuil de déclenchement est fortement abaissé en cas de déficit en G6PD. À titre d'exemple, la dapsones peut provoquer une anémie hémolytique pour des doses supérieures ou égales à 200 mg/j chez les individus sains et à partir de 50 mg/j lors des déficits en G6PD. Ceci a conduit le fabricant à associer de l'oxalate de fer à la dapsones dans les comprimés de Disulonet afin de réduire le risque d'anémie lié à l'utilisation prolongée de ce sulfone (Bauduer, 2000).

#### **2.4.2. Métaux lourds**

##### **2.4.2.1. Hydrogène arsénisé ( $\text{AsH}_3$ )**

L'intoxication se fait par inhalation en milieu professionnel (industrie du zinc). Il s'agit d'un tableau aigu survenant dans les heures qui suivent l'exposition, avec malaise général, douleurs abdominales et lombaires, vomissements, anomalies des téguments (pâleur, ictère et cyanose), anurie. Les globules rouges sont vidés de leur contenu et qualifiés d'« hématies fantômes ». L'arseniémie élevée confirme le diagnostic. Les moyens thérapeutiques utilisables selon le degré de gravité comprennent l'oxygénothérapie, la réanimation métabolique (selon le pH), l'exsanguinotransfusion et l'épuration extrarénale (Bauduer, 2009).

##### **2.4.2.2. Cuivre**

Il est ingéré de façon accidentelle ou suicidaire sous forme de sulfate de cuivre. L'antidote de l'intoxication par le cuivre est la D-pénicillamine, agissant par chélation (Bauduer, 2009).

##### **2.4.2.3. Plomb**

Les individus s'intoxiquent sur un mode chronique, via le contact avec des peintures riches en plomb (qui ne sont désormais plus commercialisées) ou l'ingestion

d'eau séjournant dans des canalisations ou récipients à base de plomb. Le risque est lié à la vétusté de l'habitat : le contrôle de la présence de plomb dans les habitations anciennes est désormais effectué systématiquement lors de toute transaction immobilière. Il existe aussi des intoxications professionnelles, désormais prévenues grâce à la réglementation et la surveillance des travailleurs. Le plomb est responsable d'une dysérythroïèse, avec anémie sidéroblastique, et parfois d'une hémolyse significative en cas d'intoxication massive. On peut observer des hématies à ponctuations basophiles. Le patient décrit des douleurs abdominales et des signes de neuropathie périphérique (Bauduer, 2009).

### **2.4.3. Venins d'animaux**

Le venin de serpent cobra présente *in vitro* des propriétés hémolytiques par l'intermédiaire d'une phospholipase et d'une protéine basique. Cependant, une anémie hémolytique est rarement observée en clinique, sauf si la morsure se traduit par l'injection directe du venin dans le flux sanguin. Des cas d'hémolyse ont été décrits avec certaines araignées, des guêpes et des abeilles ou des scorpions. Lors de piqûres multiples de guêpes chez des enfants, il a été rapporté quelques observations d'hémolyses intravasculaires compliquées d'insuffisance rénale requérant des séances de dialyse (Bauduer, 2000).

### **2.4.4. Champignons Vénéneux**

Certains champignons sont capables d'induire une hémolyse qui s'accompagne parfois d'une méthémoglobinémie. Cette complication est bien sûr noyée au milieu d'autres atteintes plus préoccupantes (hépatiques, neurologiques, digestives...). L'hémolyse est liée à la présence de certains dérivés toxiques tels que la phalline, sucre thermolabile présent chez les amanites (hémolyse si le champignon est consommé cru) ou l'acide helvétique, principe thermostable, retrouvé chez les helvellacées (Bauduer, 2000).

## **2.5. Hémolyses dues aux agents physiques**

### **2.5.1. Eau**

L'arrivée massive d'eau dans le sang (en pratique plus de 600 ml) entraîne une hémolyse par modification de l'isotonie plasmatique. Des accidents hémolytiques ont été rapportés en cas de lavage de vessie abondant, chez les rescapés de noyade (entrée

d'eau via la circulation alvéolaire pulmonaire) ou lors d'absorption massive d'eau. Le tableau biologique associe hémoglobinémie et hémoglobinurie (Bauduer, 2009).

### **2.5.1. Chaleur et brûlures étendues**

L'hémolyse s'associe à des déformations érythrocytaires variées (schizocytose, sphérocytose, échinocytose...) et à une hémoglobinurie. L'exposition des globules rouges à une température supérieure à 47°C induit des altérations morphologiques et fonctionnelles. L'intensité de l'hémolyse est proportionnelle à la surface corporelle brûlée. La destruction des érythrocytes s'observe principalement 24 à 48 heures après la brûlure ; elle est intravasculaire en cas de lésions membranaires majeures et intrasplénique lorsque les cellules sont moins endommagées (Bauduer, 2009).

## **2.6. Hypersplénisme**

Cette situation, quelles qu'en soient les étiologies, est responsable d'une destruction accélérée des hématies, principalement en raison des désordres rhéologiques qu'elles subissent en traversant la rate. L'intensité de l'hémolyse n'est pas forcément proportionnelle à l'importance de la splénomégalie. De plus, le volume sanguin contenu dans la rate est majoré, ce qui accroît la proportion d'hématies exclues de la circulation systémique. L'anémie, lorsqu'elle existe, est peu marquée et peut s'accompagner d'un degré variable de leucothrombopénie (Bauduer, 2000).

## **2.7. Effets de ph**

Pour étudier l'effet du ph sur les temps de lyse, des cellules normales ont été exposées à des valeurs de ph différents, allant de ph physiologique, ph 7,4, à ph 5,7, à osmolalité constante. Aucune hémolyse n'a été détectée à un ph de 7,4. Lorsque le ph a été progressivement ramené à 6,0, l'hémolyse est devenue plus rapide et complet. Toutefois, lorsque le ph a encore été réduit à 5,7, hémolyse est devenu plus lente et n'était pas complète (Sauer *et al.*, 1991).

La désoxygénation de l'hémoglobine et son oxydation en méthémoglobine peut générer des radicaux d'oxygène qui sont normalement éliminées par le système antioxydant intrinsèque des érythrocytes. Cependant, ce système ne peut pas rencontrer le taux accru de formation de radical dans les cas tels que réduits l'activité d'un important enzyme, intoxication par des substances pro-oxydatif, métaux lourdes, produits chimiques... etc. L'oxyradicaux, à son tour, pourrait précipiter une attaque oxydante sur membranes et provoquer une hémolyse.

Dans milieu acide, l'hémoglobine est facilement oxydée provoquant ainsi la formation d'oxyradicaux. Ces changements induits par l'acide, de l'hémoglobine, peuvent contribuer au mécanisme de l'hémolyse acide, mais ce problème est comme encore peu étudiée (Ivanov, 1999).

### **2.8. L'hémolyse osmotique et la fragilité osmotique**

L'hémolyse osmotique et la fragilité osmotique mesurent deux étapes différentes associées à la réaction d'hémolyse.

La fragilité osmotique est un processus thermodynamique contrôlé résultant de l'entrée d'eau.

Étant donné que la membrane d'érythrocyte ne peut tolérer l'étirement par l'entrée d'eau qui se produit principalement pendant le processus de gonflement. La fragilité est, par conséquent, principalement déterminée par le rapport entre le volume initial et le volume critique ( $V_i/V_c$ ). Ainsi, la diminution de fragilité osmotique à de faibles concentrations de ces composés a été reliée à l'augmentation de la surface de la membrane, c'est-à-dire le volume critique, qui se déroule sans modifier le volume de la cellule initiale dans des solutions isotoniques ;

En revanche, le taux d'hémolyse devrait être déterminé par l'étape la plus lente à la réaction d'hémolyse. La similitude entre le taux d'hémolyse pour les cellules dans une solution isotonique et ces pré-gonflements indique que le gonflement de la cellule d'un discocyte biconcave à une sphère ne détermine pas le taux d'hémolyse.

Cela est compatible avec l'observation que la perméabilité obtenue par la méthode de temps d'hémolyse classique donne une valeur inférieure à celle obtenue par la mesure directe de la variation de volume au cours de gonflement ou de rétrécissement sans hémolyse (Araki and Rifkind, 1981).

### **3. Matériel et Méthode**

#### **3.1. Matériel**

##### **3.1.1. Erythrocytes**

Le sang humain utilisé dans ce test est obtenu par prélèvement veineux au pli du coude à partir des donneurs sains. Le sang collecté dans des tubes héparines et de tube EDTA.

##### **3.1.2. Tampon PBS (phosphate buffer saline)**

Une solution saline de tampon phosphate de sodium (PBS) a été préparé à 310 mOS et ph 7,4.

##### **3.1.3. Appareillage**

Lecteur Automatique de Microplaque (ELx808™ à 96 puits), étuve de dessiccation (BINDER), Balance de précision (KERN, ABT 220-5DM), Balance (KERN 440-33N), pH mètre (WTW Ph 3110), Agitateur magnétique (FALC).

#### **3.2. Méthode**

##### **3.2.1. Préparation de la plaque multipuits à 96 puits**

On prépare une solution par la dilution du sang dans le PBS tel que : 300µl du sang dans 20ml du tampon PBS.

Les trois premiers rangers (A, B, C) sont utilisés, chacun représente un produit, le ranger à son tour est sectionné en trois sections distinctes représentant les doses des produits de testes (10µl, 20µl, 50µl).

Dans les puits (A1 à A4), on mélange un volume de 140µl de la solution tampon avec 50µl du sang préparé, et 10µl du produit Diclofénac.

Dans les puits (A5 à A8), on mélange un volume de 130µl de la solution tampon avec 50µl du sang préparé, et 20µl du produit Diclofénac.

Dans les puits (A9 à A12), on mélange un volume de 100µl de la solution tampon avec 50µl du sang préparé, et 50µl du produit Diclofénac.

Pour les rangers B et C, même proportions constituants les mélanges, tout en remplaçant le produit Diclofénac par Héparine et Ranitidine successivement.

Deux puits sont préservés à une solution témoin contenant uniquement la solution tampon et celle du sang préparée.

Juste après la préparation de la plaque, à l'aide du lecteur (ELx808™), on fait la première lecture des absorbances correspondantes au temps  $T_0$ .

On met la plaque dans un incubateur où la température est fixée à 37°C, Pendant trois à quatre heures, le taux d'hémolyse est suivi par la mesure de l'absorbance des solutions, à la longueur d'onde 630nm, chaque dix minute.



#### 4. Résultats et Discussions

Pour l'analyse des données, la différence des valeurs, de l'absorbance, initiales et finales sont désignées comme 100% d'hémolyse ; les résultats sont représentés sous forme de courbe ayant des allures proches ; deux paramètres significatifs à retirer de ces courbes (le taux d'hémolyse et le temps), Il s'agit notamment de  $T_{max}$  (Le temps où le nombre maximal des cellules sont hémolysées), et  $\%_{max}$  (Le pourcentage des érythrocytes hémolysés à  $T_{max}$ ). Les valeurs élevées de  $T_{max}$  reflètent une stabilité élevée des érythrocytes dans un tel milieu, et le  $\%_{max}$  montre l'homogénéité relative de la réaction de la population des cellules envers l'hémolyse. Il est aussi intéressant de retirer  $HT_{50}$  le temps correspondant à 50% d'hémolyse.

Plus prolongé d'incubation avec l'échantillon à entraîné une augmentation progressive de l'hémolyse (Figure 3, 4, 5). L'hémolyse est donnée en fonction de la concentration de l'échantillon pour une durée d'incubation de 3h.

Lorsque les érythrocytes sont soumis à l'effet de Diclofénac (Figure 3) ayant une dose de 50 $\mu$ l, ils ne présentent aucune hémolyse qu'après les dix premières minutes, où on observe une augmentation de taux d'hémolyse à  $R^2 = 0,938$ . Elle atteint son maximum dans 80min, avec  $HT_{50} = 41,36$ min.

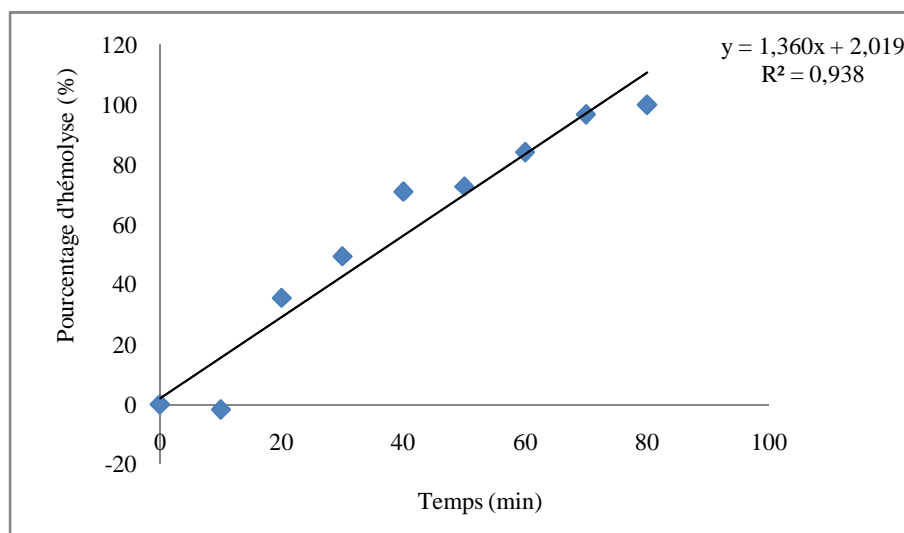


Figure 3 Taux d'hémolyse des globules rouges normaux, sous l'effet de Diclofénac (50 $\mu$ l), enregistrée durant 80min, à 630 nm

La courbe (Figure 4) montre que, sous l'effet d'Héparine, l'hémolyse des érythrocytes commence après 20min et continue d'une façon presque régulière ( $R^2 = 0,934$ ) jusqu'à atteindre son maximum à 90min ; le  $HT_{50}$  est noté 49,82.

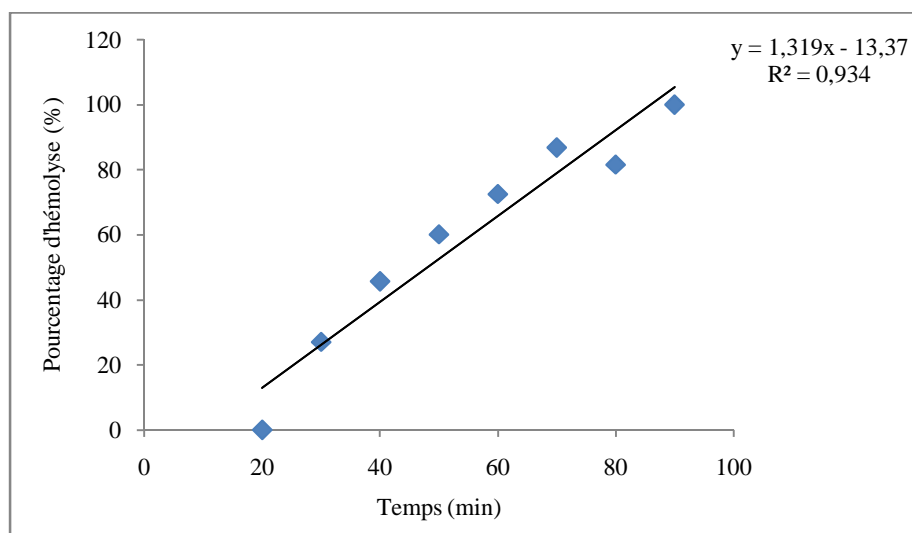


Figure 4 Taux d'hémolyse des globules rouges normaux, sous l'effet d'Héparine (50µl), enregistrée durant 90min, à 630 nm

D'après la courbe (Figure 5), Les érythrocytes sont stables jusqu'à 30min, puis l'hémolyse se déroule à un rythme de ( $R^2= 0,793$ ), sous l'effet de Ranitidine, jusqu'à atteindre son maximum à 120min ; le temps de demi-hémolyse  $HT_{50}=53,37$ .

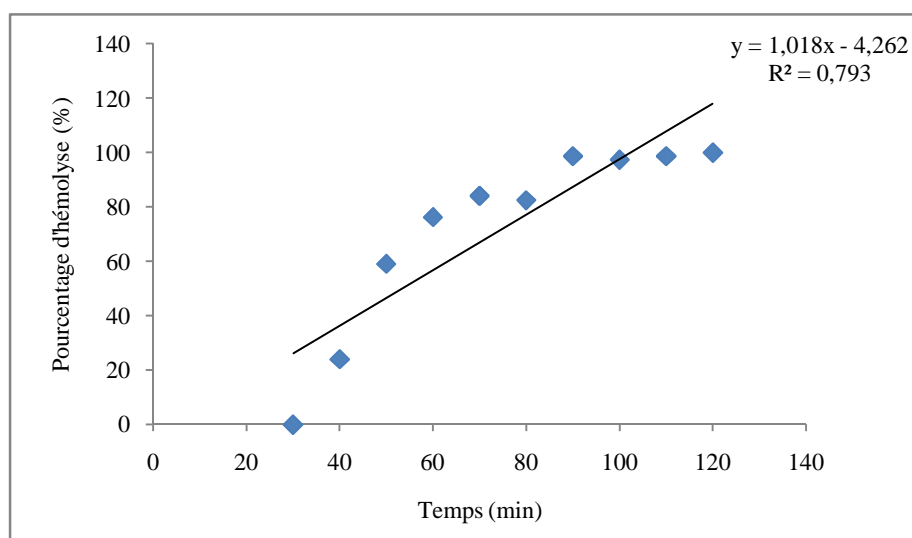


Figure 5 Taux d'hémolyse des globules rouges normaux, sous l'effet de Ranitidine (10µl), enregistrée durant 120min, à 630 nm

Les résultats expérimentaux actuels nous permettent d'en déduire comment les échantillons (Diclofénac, Héparine et Ranitidine) provoque une hémolyse. Le mécanisme peut être divisé en trois étapes ; (1) l'échantillon se lie à la membrane des érythrocytes, où (2) il induit une déformation de la membrane et transformation des érythrocytes, qui (3) conduit à l'hémolyse osmotique colloïde (Sheetz et Singer 1974).

Le déplacement de la courbe dans les tests d'hémolyse indiqué une basse fragilité osmotique des érythrocytes humains sous les échantillons de test (Figure 3, 4, 5).

La fragilité osmotique est régie essentiellement par deux facteurs: (1) le rapport surface/volume des globules rouges, due à la mesure de la redondance de membrane présente lorsque les globules rouges sont en équilibre avec des solutions isotoniques ; (2) le squelette de membrane. Sphérocytose héréditaire et elliptocytose héréditaire, globules rouges montrent une courbe de fragilité osmotique. Les deux sont des désordres hétérogènes caractérisés par altérations dans les interactions entre les protéines de la membrane, avec des défauts moléculaires signalés dans ankyrin, spectrine, bande 3, bande 4.1 ou bande 4.2. L'anormal structure de la membrane dans ces maladies provoque une perte d'aire de surface membrane érythrocytaire, qui entraîne à son tour hémolyse et anomalie mécanique (Rossi *et al.*, 2006).

Avec l'augmentation des temps de contact pour chacun des échantillons étudiés, on observe une augmentation spectaculaire de l'hémolyse.

Les trois échantillons utilisés (Diclofénac, Héparine et Ranitidine), agissent différemment en termes de seuil de concentration et de vitesse d'action.

Selon l'équation suivante  $C_E * V_E = C_T * V_T$  on peut déterminer la concentration totale de chaque échantillon utilisé *ex vivo* qui provoque l'hémolyse ;

Les échantillons en question sont :

### **E1 : Diclofénac Sandoz 75mg/3ml**

Diclofénac (DCF) (appelé Voltaren®) est un des plus populaires anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) utilisés dans la pratique de la santé pour soulager la douleur aiguë, ainsi que des symptômes ostéo - ou de polyarthrite rhumatoïde. Néanmoins, DCF provoque également la chronique gastrique et toxicité rénale chez certains patients et a favorisé la diminution du vautour indien (Gonzalez-Rey et Bebianno, 2012).

$C_T = 6,25\text{mg/ml}$
--------------------------

**E2 : Héparine ampoule 250mg/5ml**

L'héparine est un anticoagulant injectable qui intervient dans la cascade de coagulation conduisant à la formation du caillot de fibrine. En particulier, l'héparine est capable de se lier à l'anti thrombine (ou antithrombine III), augmentant considérablement son inhibition endogène vis à-vis de facteurs de la coagulation. Il en résulte une activité anticoagulante immédiate et puissante qui dépend de la concentration d'héparine, de la concentration de l'antithrombine et de celles des facteurs de la coagulation. Le temps d'héparinémie est utilisé pour la mesure de l'activité de l'héparine qui résulte de ces interactions complexes. Les concentrations variant selon les présentations, les doses d'héparine à administrer seront précisées en unités internationales (UI). Parmi les effets indésirables ;

- Risque hémorragique, essentiellement en cas de non-respect des posologies, des durées de traitement, des contre-indications, des interactions médicamenteuses et de l'âge du patient.
- Rares manifestations allergiques, cutanée ou générale.
- Risque d'ostéoporose en cas de traitement prolongé (Faure, 2012).

$C_T=12,5 \text{ mg/ml}$
--------------------------

**E3 : Chlorhydrate de Ranitidine INJ 50 mg/2 ml**

Ranitidine est un antagoniste des récepteurs de l'histamine H<sub>2</sub> qui inhibe la production d'acide gastrique. Il est couramment utilisé dans le traitement de l'ulcère gastro-duodéal (UGD) et reflux gastro-œsophagien (RGO). Il est administré par voie orale ou intraveineuse (Yakkundi *et al.*, 2011)

$C_T=1,25\text{mg/ml}$
------------------------

D'après les calculs faits ci-dessus, la valeur de la concentration nécessaire pour que l'échantillon provoque l'hémolyse est plus faible pour Ranitidine ce qui veut dire que ce dernier hémolyse les érythrocytes même à des petites concentrations ( $C_T=1,25\text{mg/ml}$ ); cependant l'héparine a une influence réduite : absence d'hémolyse à des concentrations moins de ( $C_T=12,5\text{mg/ml}$ ) (prise des volumes 10 $\mu\text{l}$ , 20 $\mu\text{l}$  d'héparine), le Diclofénac présente un effet relativement modéré ( $C_T=6,25\text{mg/ml}$ ); la cinétique de

l'hémolyse ne change pas forcément d'une manière parallèle avec la fragilité, cela est confirmé par les résultats obtenus dans les trois essais : une fragilité élevée pour Ranitidine par rapport aux deux autres échantillons, alors que la vitesse d'hémolyse correspondante à Ranitidine est la plus lente.

Selon (Araki et Rifkind, 1981) Cette indépendance de la fragilité et de la vitesse d'hémolyse est expliquée par le fait que l'hémolyse se déroule en deux étapes, il s'agit d'une étape où le volume de l'érythrocyte augmente d'un volume initial ( $V_i$ ) à un volume critique ( $V_c$ ), et une deuxième étape où l'hémolyse se suit après son déclenchement.

## **Conclusion**

Les résultats de notre étude montrent que les médicaments injectables étudiés : Diclofénac, Héparine et Ranitidine ont un effet hémolytique considérable, ainsi la destruction des érythrocytes était complète (100%).

La méthode, de suivi d'hémolyse et de sa cinétique, utilisée est efficace et a servi à déterminer le taux d'hémolyse au cours de la réaction en fonction du temps.

L'influence des échantillons (Diclofénac, Héparine et Ranitidine) sur les érythrocytes n'était pas identique en terme de fragilité de ces derniers et de la vitesse de l'hémolyse, ces deux paramètres ne changent pas d'une façon parallèle, c'est-à-dire l'augmentation de la fragilité n'introduit pas forcément une vitesse plus élevée d'hémolyse ; cet indépendance de fragilité et de la cinétique de la réaction revient au fait que plusieurs paramètres influencent leur changement, et différents phénomènes sont envisagés au cours de l'hémolyse (gonflement, oxydation...), d'autres paramètres influencent aussi le déroulement du processus d'hémolyse tels que pH du milieu, la température, la concentration des produits...etc.

Pour une étude plus approfondie il est recommandé de varier les autres paramètres influençant l'hémolyse et déterminer leurs effets.

Il est très intéressant de savoir l'origine de l'action hémolytique de ces échantillons, et chercher si le facteur ayant le rôle principal du médicament est lui même responsable de l'effet hémolytique, cela dans l'objectif de trouver, si c'est possible, des médicaments remplaçant ayant un effet hémolytique réduit voire éliminé.

### Références bibliographiques

- Araki, K., Rifkind, J.M., 1981. The rate of osmotic hemolysis A relationship with membrane bilayer fluidity. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* **645**, 81-90.
- Ashton, N., 2013. Physiology of red and white blood cells. *Anaesthesia & Intensive Care Medicine* **14**, 261-266.
- Bauduer, F., 2000. Hémolyses extracorporelles non immunologiques. *Encycl Méd Chir*, 6.
- Bauduer, F., 2009. Hémolyses extra corporelles non immunologiques et hémolyse d'origine toxique. *Encycl Méd Chir*, 7.
- Cartron, J., Salmon, C., 1978. La membrane du globule rouge. *Revue Française de Transfusion et Immuno-hématologie* **21**, 875-889.
- Cavenagh, J., 2007. White blood cells. *Surgery (Oxford)* **25**, 61-64.
- Faure, S., 2012. Héparines de bas poids moléculaire. pharmacothérapie pratique, pp. 55-58.
- Fenneteau, O., Maier-Redelsperger, M., 2000. Apport de l'examen du frottis de sang pour le diagnostic de la pathologie constitutionnelle du globule rouge. *Revue Française des Laboratoires* **2000**, 51-62.
- Gonzalez-Rey, M., Bebianno, M., 2012. Non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID) diclofenac exposure effects in mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology* **163**, S34.
- Gordon-Smith, T., 2009. Structure and function of red and white blood cells. *Medicine* **37**, 119-124.
- Hermine, d.O., Romet, M., 2011. Parathormone et érythropoïèse. *Néphrologie & thérapeutique* **7**, 5-8.
- Ivanov, I., 1999. Low pH-induced hemolysis of erythrocytes is related to the entry of the acid into cytosole and oxidative stress on cellular membranes. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* **1415**, 349-360.
- Jacob, H.S., Amsden, T., 1971. Acute hemolytic anemia with rigid red cells in hypophosphatemia. *New England Journal of Medicine* **285**, 1446-1450.

- Kierszenbaum, A.L., 2006. Histologie et Biologie Cellulaire: Une introduction à l'anatomie pathologique. *De Boeck Supérieur*.
- Kiss, J., Berman, D., Thiel, D., 1998. Effective removal of copper by plasma exchange in fulminant Wilson's disease. *Transfusion* **38**, 327-331.
- Makroo, R., Raina, V., Bhatia, A., Gupta, R., Majid, A., Thakur, U.K., Rosamma, N., 2010. Evaluation of Red Cell Hemolysis in Packed Red Cells During Processing and Storage. *Apollo Medicine* **7**, 35-38.
- Minors, D.S., 2004. Physiology of red and white blood cells. *Anaesthesia & intensive care medicine* **5**, 174-178.
- Moreno, M., Wiegand, T.J., 2014. Blood. In: Wexler, P. (Ed.), *Encyclopedia of Toxicology (Third Edition)*. Academic Press, Oxford, pp. 526-532.
- Peter Klinken, S., 2002. Red blood cells. *The international journal of biochemistry & cell biology* **34**, 1513-1518.
- Rossi, R., Giustarini, D., Milzani, A., Dalle-Donne, I., 2006. Membrane skeletal protein S-glutathionylation and hemolysis in human red blood cells. *Blood Cells, Molecules, and Diseases* **37**, 180-187.
- Sauer, A., Kurzion, T., Meyerstein, D., Meyerstein, N., 1991. Kinetics of hemolysis of normal and abnormal red blood cells in glycerol-containing media. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes* **1063**, 203-208.
- Silbernagl, S., Despopoulos, A., 2001. Atlas de poche de physiologie 3e édition. Médecine Sciences. Editions Flammarion.
- Valensi, F., 2005. Morphologie des cellules sanguines normales. *EMC-Hématologie* **2**, 1-13.
- Yakkundi, S., Millership, J., Collier, P., Shields, M.D., McElnay, J., 2011. Development and validation of a dried blood spot LC-MS/MS assay to quantify ranitidine in paediatric samples. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* **56**, 1057-1063.



## Annexes

## Annexes N° 1 : fiche technique de Diclofénac

**DICLAMID®**Diclofénac de sodium  
75mg/3ml Solution injectable

Veuillez lire attentivement l'intégralité de cette notice avant de prendre ce médicament.

- Gardez cette notice, vous pourriez avoir besoin de la relire.
- Si vous avez toute autre question, si vous avez un doute, demandez plus d'informations à votre médecin ou à votre pharmacien.
- Ce médicament vous a été personnellement prescrit. Ne le donnez jamais à quelqu'un d'autre, même en cas de symptômes identiques, cela pourrait lui être nocif.
- Si l'un des effets indésirables devient grave ou si vous remarquez un effet indésirable non mentionné dans cette notice, parlez-en à votre médecin ou à votre pharmacien.

**IDENTIFICATION DU MÉDICAMENT:**

Forme et Présentation:

Diclamid solution injectable IM à 75mg/3ml.

Usage hospitalier: boîte de 50 ampoules.

Usage officinal: étui de 2 ampoules.

**Composition:****Principe actif:**

Diclofénac Sodique.....75mg

Excipients: Métabisulfite de sodium, alcool benzyle, propylène glycol, hydroxyde de sodium, eau pour préparations injectables, osp.....3ml

**Excipients à effets notables:**

- Métabisulfite de sodium

- Alcool benzyle

- Propylène glycol

**Classe pharmaco-thérapeutique:**

Anti-inflammatoire non stéroïdien.

**INDICATIONS THÉRAPEUTIQUES:**

Ce médicament est indiqué, chez l'adulte et l'enfant à partir de 15 ans, en traitement de courte durée de:

- Certains rhumatismes inflammatoires.
- Douleurs lombaires aiguës.
- Douleurs aiguës liées à l'irritation d'un nerf, telles que les sciatiques.
- Crises de coliques néphrétiques (crises douloureuses au bas du dos dues à un blocage des voies urinaires).

**CONTRE INDICATIONS:**

Ce médicament NE DOIT PAS ÊTRE UTILISÉ dans les cas suivants:

- À partir du 6<sup>e</sup> mois de la grossesse.
- Antécédent d'allergie ou d'asthme provoqué par la prise des anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) y compris l'aspirine.
- Hypersensibilité à l'un des excipients.
- Ulcère de l'estomac ou du duodénum en évolution.
- Insuffisance hépatique ou rénale grave.

- Enfant de moins de 15 ans.

- En association à un traitement anticoagulant; risque d'hématome au point d'injection.

**PRÉCAUTIONS D'EMPLOI, MISES EN GARDE SPÉCIALES:**

CE MÉDICAMENT NE DOIT ÊTRE PRIS QUE SOUS SURVEILLANCE MÉDICALE

PRÉVENIR VOTRE MÉDECIN en cas:

- D'antécédent d'asthme associé à une rhinite chronique, une sinusite chronique ou des polypes dans le nez. L'administration de ce médicament peut entraîner une crise d'asthme notamment chez les sujets allergiques à l'aspirine ou à un anti-inflammatoire non stéroïdien.
- De saignements digestifs (rejet de sang par la bouche ou coloration noire des selles), d'ulcère, en particulier chez les patients âgés, fragilisés, de faible poids corporel. Ce médicament peut entraîner des manifestations gastro-intestinales graves. Arrêter immédiatement le traitement.
- D'antécédents digestifs (hémorragie digestive, colite ulcéreuse, maladie de Crohn, ulcère de l'estomac ou du duodénum ancien).
- De maladie du cœur, du foie ou des reins.
- De taux anormal de certains éléments du sang ou de troubles de la coagulation.

**INTERACTIONS MÉDICAMENTEUSES:**

Veuillez indiquer à votre médecin ou à votre pharmacien si vous prenez ou avez pris récemment un autre médicament, notamment des anticoagulants oraux, des antiagrégants plaquetaires, d'autres anti-inflammatoires non stéroïdiens, y compris les salicylés à fortes doses, de l'héparine injectable, du lithium, du méthotrexate (à doses supérieures à 15 mg/semaine), de la ticlopidine, même s'il s'agit d'un médicament obtenu sans ordonnance.

**GROSSESSE ET ALLAITEMENT:****Grossesse:**

- Ce médicament ne sera utilisé pendant les 5 premiers mois de la grossesse que sur les conseils de votre médecin.

- À partir du 6<sup>e</sup> mois DE GROSSESSE, vous ne devez EN AUCUN CAS prendre DE VOUS-MÊME ce médicament.

Il peut arriver toutefois, dans des cas très particuliers, que votre gynécologue vous prescrive ce médicament. Dans ce cas, respectez STRICTEMENT l'ordonnance de votre médecin.

**Allaitement:**

Ce médicament passe dans le lait maternel, par mesure de précaution il convient d'éviter de l'administrer chez la femme qui allaite.

Demandez conseil à votre médecin ou à votre pharmacien avant de prendre tout médicament.

**EFFETS SUR L'APTITUDE À CONDUIRE DES VÉHICULES ET À UTILISER DES MACHINES:**

Prévenir les patients de l'apparition possible de vertiges, de somnolence, et de troubles de la vue.

**POSOLOGIE ET MODE D'ADMINISTRATION:**

Posologie: 1 ampoule par jour pendant 2 à 3 jours, si besoin.

Le traitement peut se poursuivre avec les comprimés ou les suppositoires.

DANS TOUTS LES CAS, SE CONFORMER STRICTEMENT À L'ORDONNANCE DE VOTRE MÉDECIN.

**Mode d'administration:**

Voie intramusculaire.

Pratiquer l'injection dès le remplissage de la seringue.

Les injections doivent être faites d'une façon rigoureusement aseptique dans la partie externe du quadrant supéro-externe de la fesse, profondément et lentement. Lorsqu'elles

sont répétées, il est recommandé de changer de côté à chaque injection.

Il est important d'aspirer avant l'injection, afin de s'assurer que la pointe de l'aiguille n'est pas dans un vaisseau.

En cas de fortes douleurs au moment de l'injection, arrêter celle-ci immédiatement.

En cas de prothèse de hanche, l'injection doit être faite du côté opposé.

**SURDOSAGE:**

Si vous avez utilisé plus de DICLOFENAC, solution injectable que vous n'auriez dû, prévenir immédiatement un médecin.

**EFFETS INDÉSIRABLES:**

Comme tout médicament, ce produit peut chez certaines personnes, entraîner des effets plus ou moins gênants

**Des réactions allergiques:**

- Cutanées: éruption, urticaire, eczéma.
- Respiratoires: crise d'asthme, maladie du poumon.
- Générales: notamment chez les sujets allergiques à l'aspirine.

- Autres: inflammation des petits vaisseaux sanguins, hypotension.

Très rarement un décollement de la peau pouvant rapidement s'étendre de façon très grave à tout le corps, jaunisse, convulsions, méningite.

Rarement une hémorragie digestive. Celle-ci est d'autant plus fréquente que la posologie utilisée est élevée.

Des cas d'ulcère ou de perforation gastro-intestinale et d'inflammation digestive basse douloureuse ont pu être observés ainsi que d'exceptionnelles inflammations sévères du foie. Dans tous ces cas, il faut, immédiatement arrêter le traitement et avertir votre médecin.

Au cours du traitement, il est possible que surviennent également:

- Des troubles digestifs: nausées, vomissements, diarrhées, constipation, crampes abdominales, maux d'estomac, digestion difficile, perte d'appétit, rot, affection du pancréas.
- Maux de tête, étourdissements, vertiges, convulsions, insomnie, nervosité, fatigue, tremblements, fourmillements, troubles de la vue, bourdonnements d'oreille.
- Chute des cheveux.
- Troubles du fonctionnement des reins, de rares œdèmes.
- Troubles du fonctionnement du foie.

Très rarement abcès et nécroses (en particulier chez le sujet diabétique âgé)

NE PAS HESITER À DEMANDER L'AVIS DE VOTRE MÉDECIN OU DE VOTRE PHARMACIEN ET À SIGNALER TOUT EFFET NON SOUHAITÉ ET GENANT QUI NE SERAIT PAS MENTIONNÉ DANS CETTE NOTICE.

**CONDITIONS DE CONSERVATION:**

- Ne pas dépasser la date limite d'utilisation figurant sur le conditionnement extérieur.
- À conserver à une température inférieure à 25°C, dans l'emballage d'origine et à l'abri de la lumière.
- Tenir hors de la portée des enfants.

**Liste II**

Date de révision de la notice: Juillet 2012.

**FABRICANT / DETENTEUR DE LA D.E.:**

LES LABORATOIRES FRATER-RAZES:

08, Site Oued El Karma, Saoula, Alger.

N° D.E.: 12 / 04 B 004 / 433



## Annexes N° 2 : fiche technique d'héparine

**Heparin LEO injection****Anticoagulant****Vials**

Heparin sodium 1,000 i.u., 5,000 i.u. or 25,000 i.u./ml, preservative; Benzyl alcohol, Methylparahydroxybenzoate, Propylparahydroxybenzoate.

**Ampoules**

Heparin sodium 1,000 i.u., 5,000 i.u., 10,000 i.u. or 25,000 i.u., without preservative.

**Properties**

Heparin is a naturally occurring anticoagulant which prevents the coagulation of blood in vivo and in vitro. Following administration of full therapeutic doses of heparin the wholeblood clotting time, the thrombin time and the one-stage prothrombin time are prolonged. The prolongation of clotting time is proportional to the dose administered. Whereas with therapeutic doses, the bleeding time is usually unaffected. In most cases the clotting time is not measurably affected by low doses of heparin.

Heparin acts at multiple sites in the normal coagulation system. Small amounts of heparin in combination with antithrombin III (heparin cofactor) can prevent the development of a hypercoagulable state by inactivating activated Factor X, preventing the conversion of prothrombin to thrombin (the principle of low dose prophylaxis). Once a hypercoagulable state exists, larger amounts of heparin in combination with antithrombin III can inhibit the coagulation process by inactivating thrombin and earlier clotting intermediates, thus preventing the conversion of fibrinogen to fibrin (the principle of full dose therapy). Heparin also prevents the formation of a stable fibrin clot by inhibiting the activation of the fibrin stabilizing factor.

Heparin does not have fibrinolytic activity; therefore, it will not lyse existing clots.

Menstruation and pregnancy are not contraindications to heparin therapy. Heparin does not cross the placenta or appear in breast milk.

In addition to the anticoagulant properties, heparin also has some lipaemia clearing effect, which may be utilized in the treatment and prevention of atherosclerosis and fat embolism.

**Indications**

Heparin is indicated for prophylaxis and treatment of venous thrombosis and pulmonary embolism; in the treatment of myocardial infarction and arterial embolism; for prevention of clotting in arterial and heart surgery and for prevention of cerebral thrombosis. Heparin may also be used as an anticoagulant in blood transfusions, extra-corporeal circulation, dialysis procedures, and for laboratory purposes.

**Administration**

Heparin is usually administered by intravenous or subcutaneous injection.

The intramuscular route cannot be recommended because of the high incidence of haematoma.

The increase in clotting time provided by heparin becomes apparent immediately after administration and lasts for 4 to 6 hours after intravenous injection and for about eight hours after subcutaneous injection.

**Dosage**

Haemodialysis: 7,500–12,500 i.u. (without preservative) is normally required per dialysis. Intravenous administration: 5,000–10,000 i.u. every four hours either by bolus injection or continuous infusion in Sodium Chloride Injection or Dextrose Injection. However, the dose should be monitored with coagulation tests performed just before each administration and varied according to individual response.

The clotting time should be 2–3 times the control value.

Subcutaneous administration (Therapeutic dosage): Subcutaneous administration of 10,000 i.u. may be given every 8 hours after an initial intravenous bolus injection of 5,000 i.u.

Low-dose heparin prophylaxis: 5,000 i.u. in 0.2 ml s.c. should be given two to six hours pre-operatively and every 8–12 hours post-operatively for 10–14 days, or until the patient is mobile, whichever is the longer.

Myocardial infarction: 5,000 i.u. s.c. every twelve hours beginning during the twelve hours following the first sign of myocardial infarction.

Open heart surgery: Operations of less than two hours, 120 i.u./kg/hour. For operations of longer duration, one and a half times this dose should be given. For each 450 ml of blood used, 2,000 i.u. are needed.

Treatment periods vary from 10–14 days in peri-operative prophylaxis to as much as six weeks in the treatment of established thrombosis.

It is anticipated that heparin will have disappeared from the blood-stream 4 hours after intravenous injection of 5,000 i.u. and 6–8 hours after 10,000 i.u. and 15,000 i.u. of i.v. heparin, respectively.

In situations needing large amounts of heparin, as in cardio-pulmonary bypass, preservative-free heparin should be used. If this is unavailable and preserved heparin has to be used, then the most concentrated heparin solution (25,000 IU/ml) should be chosen to minimise the quantity of preservative administered.

**Pregnancy**

The antithrombotic drug of choice during pregnancy should be heparin, even taking into consideration the fact that long-term (6 months or more) application of heparin can cause severe osteoporosis in the mother.

To minimize the risk of osteoporosis heparin is given in the first trimester, followed by coumarin therapy until about the 36th week, and then heparin is given for the last few weeks. Heparin therapy should be completely stopped six hours before delivery.

**Contraindications**

Heparin is contraindicated in patients known to have hypersensitivity to heparin. It is also contraindicated when suitable blood coagulation tests – e.g. the whole-blood clotting time, partial thromboplastin time, – cannot be performed at the required intervals. There is usually no need to monitor the effect of low-dose heparin in patients with normal coagulation parameters. The drug is contraindicated during any uncontrolled active bleeding state (see Warnings).

Heparin without preservatives should be used in premature infants.

**Side-effects**

Transient alopecia and diarrhoea may occur. Thrombocytopenia and osteoporosis with spontaneous fractures have been reported. Febrile or allergic reactions have occasionally been reported.

**Warnings**

When heparin sodium is administered in therapeutic amounts, its dosage should be regulated by frequent blood coagulation tests. If the coagulation test is unduly prolonged or if haemorrhage occurs heparin sodium should be discontinued promptly (See Overdosage).

Some of the conditions in which increased danger of haemorrhage exists are as follows:

Cardiovascular – Subacute bacterial endocarditis; arterial sclerosis; increased capillary permeability; during and immediately following (a) spinal tap or spinal anaesthesia or (b) major surgery, especially involving the brain,





spinal cord or eye.

**Haematologic** – Conditions associated with increased bleeding tendencies, such as haemophilia, some purpuras, and thrombocytopenia.

**Gastro-intestinal** – Inaccessible ulcerative lesions and continuous tube drainage of the stomach or small intestine.

Heparin may prolong the one-stage prothrombin time. Therefore, when heparin sodium is given with dicumarol or warfarin sodium, a period of at least five hours after the last intravenous dose or 24 hours after the last subcutaneous dose should elapse before blood is drawn if a valid prothrombin time is to be obtained.

#### **Overdosage**

Bleeding may be a complication of therapy.

Slight epistaxis, occasional red cells in the urine, and bruising are signs of overdosage.

Slight haemorrhage due to overdosage can usually be treated by withdrawing the drug. Severe bleeding may be reduced by the administration of protamine sulphate.

The effect of heparin can be reversed immediately by intravenous administration of 1% protamine sulphate solution. The injection should be given very slowly (over one to three minutes). The quantity of protamine required for neutralization falls rapidly with the lapse of time after the administration of heparin. If given within 15 minutes of the heparin injection 10 mg of protamine will neutralize 1,000 i.u. of heparin, while 30 minutes after the heparin injection of 1,000 i.u., only 5 mg of protamine sulphate is needed. If more time has elapsed after the administration of heparin, the dose of protamine sulphate required for neutralization should be determined accurately by titrating with the patient's plasma.

It is important to avoid overdosage of protamine sulphate because protamine itself has anticoagulant properties.

The dosage should not exceed the equivalent of 50 mg protamine sulphate in any ten-minute period.

Intravenous injection of protamine may cause a sudden fall in blood pressure, bradycardia, dyspnoea, and transitory flushing, but these may be avoided or diminished by slow administration.

#### **Storage Conditions**

Store at controlled room temperature (15°C-25°C)

#### **Precautions**

Heparin therapy should be given with caution to patients about to undergo surgery, and those with impaired renal or hepatic function.

If oral anticoagulants are started, heparin should be continued in slightly decreasing doses for another 4-5 days until the oral drug has attained full prothrombin depressing activity.

Heparin should be used with caution in any patient with a history of allergy. Before a therapeutic dose is given to such a patient, a trial dose of 1,000 units may be advisable.

#### **Dosage in the elderly**

Elderly women have a greater tendency to bleed and it may be necessary to reduce the dose according to coagulation tests, but dosage alterations are unlikely for prophylaxis.

#### **Interactions**

Drugs (such as acetylsalicylic acid, dextran, phenylbutazone, ibuprofen, indomethacin, dipyridamole, and hydroxychloroquine) that interfere with platelet-aggregation reactions may induce bleeding and should be used with caution in patients receiving heparin. It may be necessary to increase doses of heparin in the febrile state.

Digitalis, tetracycline, nicotine, or antihistamines may partially counteract the anticoagulant action of heparin sodium. An increased resistance to the drug is frequently encountered in thrombosis, thrombophlebitis, infections with thrombosing tendencies, myocardial infarction, cancer, and postsurgical patients.

**Package sizes:** 5,000 IU/ml: 5 ml x 50, 5 ml x 5  
1,000 IU/ml: 5 ml x 50, 5 ml x 5

#### **Shelf life**

3 years

**Date of last revision of the package insert leaflet:** 23 August 2011.

LEO Pharmaceutical Products – Ballerup – Denmark

**LEO**

## Annexes N° 3 : fiche technique de Ranitidine

# RANITIDAL®

## Ranitidine

**FORME ET PRESENTATION**

**Forme orale** : comprimé rond pelliculé, dosé à 150 mg (rosa). Boîte de 20 comprimés.

**Forme injectable** : boîte de 5 et 100 ampoules de 50mg/2ml.

**COMPOSITION:**

Ranitidine (DCI) chlorhydrate ..... 150 mg  
 Excipients ..... q.s.p 1 comprimé  
 La liste des excipients : povidone, cellulose microcristalline, glycolate d'amidon sodique, sulphate lauryl sodique, stéarate de magnésium et film d'enrobage.  
 Ranitidine (DCI) chlorhydrate.....50 mg  
 Eau pour préparation injectable..... 2 ml

**PROPRIETES**

Antihistaminique H2.

- La ranitidine est un antagoniste des récepteurs H2 à l'histamine.
- La ranitidine inhibe la sécrétion d'acide gastrique provoquée non seulement par l'histamine, mais également par la pentagastrine, l'insuline, la caféine ou par les aliments.

**INDICATIONS**

- Ulcère gastrique ou duodéal évolutif,
- Syndrome de Zollinger-Ellison,
- Oesophagite par reflux gastro-oesophagien,
- Traitement d'entretien de l'ulcère duodéal.

**CONTRE-INDICATIONS**

Hypersensibilité à la ranitidine.

**PRECAUTIONS D'EMPLOI ET MISE EN GARDE**

- En cas d'ulcère gastrique, il est recommandé de vérifier la bénignité de la lésion avant traitement. En cas d'insuffisance rénale, il convient de réduire la posologie en fonction de la clairance de la créatinine.
- L'administration d'antisécrotoires de la classe des inhibiteurs des récepteurs H2 favorise le développement bactérien intragastrique par diminution de l'acidité gastrique.

**INTERACTIONS MEDICAMENTEUSES**

Les topiques gastro-intestinaux comme les hydroxydes de magnésium et d'aluminium peuvent diminuer modérément l'absorption digestive de la Ranitidine lorsqu'ils sont administrés au même moment.

Il est souhaitable de les prescrire à distance de la Ranitidine (ex: 2 heures).

**GROSSESSE ET ALLAITEMENT**

La ranitidine passe dans le lait maternel, il est donc déconseillé de l'administrer chez la femme qui allaite.

Au cours de la grossesse, le traitement par ranitidine ne doit être envisager que si c'est nécessaire.

**EFFETS INDESIRABLES**

- Ont été signalés de rares cas de: nausées, céphalées, diarrhées ou constipation, élévation transitoire de transaminases réversibles à l'arrêt du traitement.
- Rares réactions anaphylactoides, rash cutanés.
  - Très exceptionnellement des états de confusion mentale en particulier chez les sujets âgés ou ayant une insuffisance rénale sévère.

**POSOLOGIE ET MODE D'EMPLOI**

- Ulcère duodéal et ulcère gastrique évolutif, oesophagite par reflux gastro-oesophagien: la dose usuelle est d'un comprimé à 150 mg matin et soir ou 2 comprimés à 150 mg en prise unique le soir.

l'absorption n'étant pas influencée par l'alimentation, les comprimés peuvent être pris au cours ou en dehors des repas.

La durée du traitement est en général de 4 semaines.

- Traitement d'entretien de l'ulcère duodéal: un comprimé à 150 mg le soir.
- Syndrome de Zollinger-Ellison: commencer le traitement par 1 comprimé 3 à 4 fois par jour.
- En injection IM : 1 à 4 ampoules à 50 mg/24 heures.
- En injection IV lente (au moins 2 minutes), après dilution d'une ampoule à 50 mg dans 20 ml de solution injectable : 1 à 4 ampoules à 50 mg/24 heures.
- En perfusion IV : 0,125 à 0,250 mg/kg/heure. Si nécessaire, le relais sera pris par les comprimés dès que possible. Les doses peuvent être augmentées dans les états hypersecrétoires (syndrome de Zollinger-Ellison). La posologie doit être diminuée du tiers ou de la moitié chez l'insuffisant rénal et en cas d'insuffisance hépatocellulaire sévère.

**CONSERVATION**

Tenir à l'abri de la lumière, de l'humidité et à une température modérée ( 15°C - 25°C ).

La solution injectable doit être utilisée immédiatement après rupture de l'ampoule .

Tenir hors de la portée des enfants.

Ne pas dépasser la date limite d'utilisation.

Liste II : Respecter les doses prescrites

Décision d'enregistrement : 039/10A 003/98/08 - 039/10A 002/12 .

Ranitidal® comprimé : produit par REMEDICA Chypre, conditionné par SOPHAL spa Algérie.

Ranitidal® injectable : produit par RPC Chine , conditionné par SOPHAL spa Algérie .

Date de révision de la notice : Mai 2012.



الشركة الصيدلانية الجزائرية  
 SOCIÉTÉ PHARMACEUTIQUE ALGÉRIENNE

BP 147, Hassi Ben Okba - 31295 - Oran - Algérie  
 Tél. : 041 42 87 71 / 72 - Fax : 041 42 87 76



## Résumé

L'hémolyse est la destruction des globules rouges, elle peut être induite par plusieurs facteurs chimiques, ce phénomène est largement discuté dans le domaine de la production des médicaments.

On veut arriver, par ce travail, à déterminer l'effet hémolytique de trois médicaments injectables : Diclofénac, Héparine et Ranitidine.

L'analyse a été basée sur la méthode spectrophotométrique, elle consiste à mesurer l'absorbance à ( $\lambda = 630\text{nm}$ ) de la lumière ; les résultats ont montrés que les médicaments en sujet induisent l'hémolyse des érythrocytes ; la fragilité de ces derniers et la cinétique de leurs hémolyse varient selon le produit étudié ; au fait, ces deux paramètres ne varient pas d'une façon parallèle ; la fragilité exprimée par la concentration nécessaire en produit pour provoquer l'hémolyse est donnée par la valeur  $C_T$ , leurs cinétiques hémolytiques sont donnée par le temps de demi hémolyse  $HT_{50}$ .

La présente étude confirme l'hémolyse des érythrocytes sous l'effet de Diclofénac, Héparine et de Ranitidine avec une agressivité remarquable de ce dernier.

**Mots-clés :** érythrocyte, hémolyse, fragilité osmotique, hémolyse osmotique

## Abstract

Hemolysis is the destruction of red blood cells, it can be induced by chemical factors, this phenomenon is widely discussed in the field of the production of medicines.

We want to get through this work, to determine the hemolytic effect of three injectable drugs: Diclofenac, Heparin and Ranitidine.

The analysis was based on the Spectrophotometric method, it is to measure the absorbance at ( $\lambda = 630\text{nm}$ ) of light; the results showed that subject drugs induce hemolysis of erythrocytes; the fragility of the latter and the kinetics of their hemolysis varies according to the product studied; in fact, these two parameters do not vary from a parallel manner; fragility expressed by the concentration required in product to cause hemolysis is given by values  $C_T$ , their hemolytic kinetics are given by the time of a half hemolysis  $HT_{50}$ .

The present study confirms the hemolysis of erythrocytes due to Diclofenac, Heparin and Ranitidine with a remarkable aggressiveness of the latter.

**Key-words :** erythrocyte, hemolysis, osmotic fragility, osmotic hemolysis

## ملخص

انحلال الدم هو تدمير لخلايا كريات الدم الحمراء، فإنه يمكن أن يكون ناجما عن عوامل كيميائية مختلفة، وهذه الظاهرة تعرف نقاشا واسعا في مجال إنتاج الأدوية.

نحن نريد أن نصل من خلال هذا العمل، لتحديد مدى تأثير ثلاثة أنواع من الأدوية تؤخذ عن طريق الحقن: الديكلوفيناك، الهيبارين، الرانيتيدين، على انحلال خلايا كريات الدم الحمراء.

التحليل يستند إلى أسلوب عمل جهاز التحليل الطيفي، لقياس امتصاص الضوء في ( $\lambda = 630\text{nm}$ )؛ وأظهرت النتائج أن الأدوية المستعملة تحت على انحلال الكريات الحمراء؛ هشاشة هذا الأخير وحركية انحلالها تختلف حسب نوع المنتج المستعمل؛ في الواقع، لا تختلفان بطريقة متوازية، الهشاشة تتمثل في كمية التركيز الضروري في المنتج الذي يسبب انحلال الدم، و أعطيت على شكل قيم ت ك، حركية الانحلال تعطى على شكل نصف قيمة وقت الانحلال  $HT_{50}$ .

تؤكد هذه الدراسة انحلال خلايا كريات الدم الحمراء نتيجة لـديكلوفيناك، الهيبارين و الرانيتيدين مع تأثير واضح لهذا الأخير.

**كلمات مفاتيح:** كريات الدم الحمراء، انحلال الدم، هشاشة كريات الدم الحمراء، انحلال الدم الأسموزي.