



UNIVERSITE SULTAN MOULAY SLIMANE

Faculté des Sciences et Techniques

N° d'ordre : 429/22



كلية العلوم والتقنيات
ببني ملال
Faculté des Sciences et Techniques de Beni Mellal

Centre d'Études Doctorales : Sciences et Techniques

Formation Doctorale : **Ressources Naturelles, Environnement et Santé**

THÈSE

Présentée par

BOUHA MOHAMED

Pour l'obtention du grade de

DOCTEUR

Discipline : Chimie

Spécialité : Chimie Appliquée

« *Approche de Détermination, par Analyse des données, de Facteurs Influençant la Cristallurie et les lithiases urinaire et biliaire dans la région de Béni Mellal-Khénifra au Maroc* »

Soutenue le Samedi 04 Juin 2022 à 10h devant la commission d'examen :

Pr. NAJAT ELHADIRI	Professeur, Université Cadi Ayyad, F.S.S. Marrakech, Maroc	Présidente-Rapporteur
Pr. TARIK AINANE	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, E.S.T. Khénifra, Maroc	Rapporteur
Pr. AMINE MOUBARIK	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.P. Béni-Mellal, Maroc	Rapporteur
Pr. TARIK EL OUFY	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.P. Khouribga, Maroc	Examinateur
Pr. MUSTAPHA OUBENALI	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Invité
Pr. MOHAMED MBARKI	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Co-encadrant
Pr. MOHAMED BERKANI	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Co-encadrant
Pr. MALIKA ECHAJIA	Professeur, Université Sultan Moulay Slimane, F.S.T. Béni-Mellal, Maroc	Directeur de Thèse

Dédicaces

J'ai l'honneur de dédier ce travail :

A ma mère, décédée il y a peu et qui serait contente d'apprendre que son fils a enfin terminé le travail qu'il avait commencé.

A mon très cher père qui a consenti d'énormes sacrifices afin de me mener à la réussite de mes études. À travers ce travail, qu'il croit à mes chaleureuses expressions d'amour.

A mon cher frère et à mes chères sœurs pour leurs conseils et leur profond amour.

A tous mes amis sans exception et mes collègues de laboratoire de l'Ingénierie en Chimie et Physique de la Matière, Faculté des sciences et techniques, Béni Mellal et de laboratoire d'Ingénierie et Technologie Alimentaire, Ecole supérieur de technologie, Béni Mellal.

En fin, que toutes les personnes ayant participé de près ou de loin à ce travail, soient remerciées infiniment.

Remerciements

J'exprime mes grands respects et mes profondes gratitude à tous ceux qui ont contribué directement ou indirectement à la réalisation du présent travail.

Je tiens tout d'abord à exprimer ma gratitude à ma directrice de thèse Madame **Malika ECHAJIA**, à mes co-directeurs de thèse Messieurs **Mohamed MBARKI** et **Mohamed BERKANI**, Professeurs à la Faculté des Sciences et Techniques de Beni Mellal. Ils m'ont consacré une grande disponibilité, pour discuter des questions scientifiques et également pour m'aider dans les aspects pratiques. Ainsi, ils m'ont transmis leurs connaissances avec beaucoup de patience tout au long de mon travail et m'ont apporté une aide déterminante pour bien accomplir la thèse.

Je tiens également à remercier tous les membres du jury d'avoir voulu évaluer ce travail et sans doute par leurs remarques pertinentes, vont permettre l'amélioration de la qualité du manuscrit et l'essor vers de nouvelles perspectives.

Je tiens à remercier aussi tous les professeurs qui ont contribué à notre formation de Master Physico-chimie et analyse des matériaux à la FST de Beni Mellal.

Je remercie la Direction du Centre Hospitalier Régional de Beni Mellal, et tous les collègues du Laboratoire d'Anatomie Pathologique et Service d'Urologie au même centre. Je remercie tous les collègues du centre d'analyse de Béni Mellal, Marrakech et de Meknès. Je remercie également les collègues du Laboratoire de l'Ingénierie en Chimie et Physique de la Matière de la FSTBM et du laboratoire d'Ingénierie et Technologie Alimentaire LITA, ESTBM.

Résumé

Le but du présent travail est d'étudier, en détails, les facteurs influençant la cristallurie et les lithiases urinaire et biliaire dans la région de Béni Mellal-Khenifra au Maroc.

De février à juillet 2018, des échantillons d'urine matinale ont été collectés chez 325 patients du Centre Hospitalier Régional de Beni Mellal au Maroc. Parmi ces patients, 148 présentait la cristallurie positive. La Microscopie Optique à Lumière Polarisée a été appliquée sur les urines de ces derniers. Cette méthode est utilisée pour détecter le profil chimique de la cristallurie ainsi que l'identification et le dénombrement des formes cristallines présentes dans l'urine. Les résultats obtenus montrent la présence majoritaire des oxalates de calcium monohydratés (whewellite) et dihydratés (weddelite) et de l'acide urique. Par ailleurs, neuf facteurs ont été étudiés chez les patients à savoir : âge, genre, origine géographique, qualité de l'eau, apport hydrique, pH urinaire, profil chimique, diabète et hypertension artérielle. La méthode d'Analyse en Composantes Principales (ACP) a été appliquée sur ces facteurs. Il a été déduit qu'il existe des corrélations plus ou moins fortes entre ces facteurs d'une part et la présence de la cristallurie d'autre part.

La présente étude a porté également sur la présence des calculs urinaires chez 208 patients hospitalisés au Centre Hospitalier Régional de Beni Mellal. L'effet de quatre facteurs : âge, genre, qualité de l'eau et origine géographique sur la présence des calculs urinaires a été étudié. Les résultats montrent que, contrairement aux facteurs : « âge » et « genre des patients », les facteurs « qualité de l'eau » et « origine géographique » ont un impact direct sur la présence de la lithiase urinaire.

La lithiase biliaire a été aussi étudiée. Les calculs biliaires de 226 patients hospitalisés (qui ont subi l'ablation de la vésicule biliaire) ont été analysés. La statistique descriptive et l'ACP ont montré la présence de corrélations entre les facteurs étudiés à savoir : type de la cholécystite, type du calcul biliaire (présence ou non du noyau), âge, genre, origine géographique, qualité de l'eau, apport hydrique, diabète et hypertension artérielle. Il a été constaté que les calculs biliaires prennent de nombreuses formes, tailles, couleurs et textures.

Par ailleurs, la composition chimique des calculs biliaires provenant des patients de la région de Béni Mellal-Khénifra a été étudiée moyennant la Microscopie Électronique à Balayage, la Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier et la Diffraction des Rayons X. L'analyse des résultats obtenus montre que ces calculs peuvent être classés en deux types : cholestérol pur et cholestérol mixte et que, généralement le cholestérol et la bilirubine sont les principaux facteurs de risque de la lithiase biliaire.

Mots-Clés : Cristallurie, profil chimique de l'urine, whewellite, weddellite, calculs biliaires, cholestérol, cholécystite, ACP.

Abstract

The aim of this work is to study, in detail, the factors influencing crystalluria and urinary and biliary lithiasis in the region of Beni Mellal-Khenifra in Morocco.

From February to July 2018, morning urine samples were collected from 325 patients at the Regional Hospital Center of Beni Mellal in Morocco. Among these patients, 148 had positive crystalluria. Polarizing Light Optical Microscopy was applied to the urine of these patients. This method is used to detect the chemical profile of crystalluria and to identify and count the crystalline forms present in the urine. The obtained results show a majority presence of calcium oxalates monohydrate (whewellite) and dihydrate (weddelite) and uric acid.

In addition, nine factors have been studied in the patients, namely: age, gender, geographical origin, water quality, water intake, urinary pH, chemical profile, diabetes and arterial hypertension. Principal Components Analysis (PCA) method has been applied on these factors. It has been deduced that there are more or less strong correlations between these factors on the one hand and the presence of crystalluria on the other hand.

A study done in 2019 on the presence of urinary stones in 208 patients hospitalized at the Regional Hospital Center of Beni Mellal. The effect of four factors: age, gender, water quality and geographical origin on the presence of urinary stones has been studied. The results show that, contrary to the factors: "age" and "gender of patients", the factors "water quality" and "geographical origin" have a direct impact on the presence of urinary calculi.

In this thesis, a study is made on biliary lithiasis. The gallstones of 226 hospitalized patients (who underwent gallbladder removal) were studied. Descriptive statistics and PCA have shown the presence of correlations between the studied factors, namely: type of cholecystitis, type of gallstone (presence or absence of nucleus), age, gender, geographical origin, water quality, water intake, diabetes and hypertension. It has been found that gallstones come in many shapes, sizes, colors and textures.

Furthermore, the chemical composition of gallstones from patients in the Beni Mellal-Khénifra region has been studied by means of Scanning Electron Microscopy, Fourier

Transform Infrared Spectroscopy and X-ray Diffraction. The analysis of the obtained results shows that these stones can be classified in two types: pure cholesterol and mixed cholesterol and that, generally, cholesterol and bilirubin are the main risk factors of biliary lithiasis.

Keywords: Crystalluria, urine chemical profile, whewellite, weddellite, gallstones, cholesterol, cholecystitis, PCA.

الهدف من هذا العمل هو دراسة بالتفصيل العوامل المؤدية إلى ظهور الحصيات في البول وحصى البول والمرارة عند مرضى منطقة بني ملال خنيفرة بالمغرب.

في الفترة من فبراير إلى يوليو 2018، تم جمع عينات البول من 325 مريض داخل مركز المستشفى الجهوي لمدينة بني ملال بالمغرب. من بين هؤلاء المرضى، 148 مريض لديهم حصيات في البول. وقد تم استخدام الفحص المجهرى للضوء المستقطب على بول هؤلاء المرضى. تُستخدم هذه الطريقة لتحديد الأشكال البلورية الموجودة في البول وتعدادها. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود أغلبية أكسالات الكالسيوم أحادي الهيدرات وثنائي الهيدرات وحمض اليوريك.

بالإضافة إلى ذلك، تمت دراسة تسعة عوامل للمرضى، وهي: السن، النوع (ذكر أو أنثى)، الأصل الجغرافي، طبيعة المياه المستهلكة، كمية المياه المستهلكة، درجة الحموضة في البول، مظهر البول، مرض السكري وارتفاع الضغط الدموي. طُبق في هذا العمل طريقة تحليل المكونات الرئيسية (PCA) على هذه العوامل فتم استنتاج أن هناك ارتباطات قوية إلى حد ما بين هذه العوامل من ناحية وجود الحصيات البولية من ناحية أخرى.

دراسة أجريت عام 2019 على وجود حصى البول لدى 208 مريضا، أجريت عليهم عملية إزالة حصى البول بمركز المستشفى الجهوي، بني ملال. تمت دراسة تأثير أربعة عوامل هي: السن، النوع، نوعية المياه والأصل الجغرافي للمريض على وجود الحصى في المسالك البولية. أظهرت النتائج، خلافا لعوامل العمر نوع المريض (ذكر أو أنثى)، فإن عامل نوعية المياه المستعملة والأصل الجغرافي لهما تأثير مباشر على وجود الحصى في المسالك البولية.

في هذه الأطروحة، تم دراسة حصى المرارة لـ 226 مريضاً في المستشفى (خضعوا لاستئصال المرارة). أظهرت تطبيق طريقة تحليل المكونات الرئيسية (PCA) على وجود ارتباطات بين العوامل المدروسة، وهي: نوع التهاب المرارة، نوع حصى المرارة (وجود النواة أم لا)، العمر، النوع، الأصل الجغرافي، نوعية المياه المستعملة، كمية المياه المستهلكة، مرض السكري وارتفاع الضغط الدموي. لقد أظهرت الدراسة أن حصى المرارة تأتي على العديد من الأشكال والأحجام والألوان.

علاوة على ذلك، تمت دراسة التركيب الكيميائي لحصى المرارة لمرضى جهة بني ملال خنيفرة عن طريق الفحص المجهرى الإلكتروني، الفحص بالأشعة تحت الحمراء وبالأشعة السينية. يُظهر تحليل النتائج التي تم الحصول عليها أن حصى المرارة يمكن تصنيفها إلى نوعين: الكوليسترول الخالص والكوليسترول المختلط وأن الكوليسترول والبيليبروبين بشكل عام هما من عوامل الخطر الرئيسية لوجود حصى المرارة.

الكلمات المفتاحية: حصيات البول، الصنف الكيميائي للبول، أكسالات الكالسيوم، حصى المرارة، الكوليسترول، التهاب المرارة، تحليل المكونات الرئيسية (PCA).

Table des matières

Introduction générale.....	1
Références bibliographiques	5
Partie 1 : Étude bibliographique sur la cristallurie, la maladie de la lithiase urinaire et biliaire.....	7
Chapitre 1. Cristallurie.....	8
1.1 Introduction	8
1.2 Diversité des formes cristallines.....	8
1.3 Déterminants de la cristallurie.....	10
1.4 Aspects méthodologiques.....	13
1.4.1 Choix du prélèvement et conditions de réalisation de l'examen	13
1.4.2 Divers protocoles analytiques	13
1.5 Réalisation pratique d'une étude de la cristallurie	14
1.5.1 Transfert de l'urine dans la cellule d'examen.....	14
1.5.2 Mesure du pH urinaire.....	14
1.5.3 Examen au Microscope à Polarisation	14
1.6 Classification des espèces cristallines	15
1.6.1 Espèces cristallines indépendantes du pH	15
1.6.2 Espèces cristallines pH-dépendantes.....	19
1.6.3 Cristalluries médicamenteuses	24
1.7 Critères d'interprétation biologique et clinique d'une cristallurie.....	25
1.7.1 Nature chimique des cristaux	25

1.7.2 Importance de l'espèce cristalline.....	28
1.7.3 Faciès cristallin.....	29
1.7.4 Taille des cristaux.....	29
1.7.5 Abondance de la cristallurie.....	30
1.7.6 Agrégation cristalline	31
1.8 Conclusion.....	31
Références bibliographiques	32
Chapitre 2. Lithiase urinaire.....	36
2.1 Introduction	36
2.2 Localisation anatomique des calculs sur l'arbre urinaire	37
2.3 Epidémiologie et prévalence de la lithiase urinaire.....	38
2.3.2 Etapes de la formation des calculs.....	40
2.3.3 Promoteurs et inhibiteurs de la lithogénèse.....	45
2.4 Différents types de calculs	46
2.5 Conclusion.....	47
Références bibliographiques	48
Chapitre 3. Lithiase biliaire.....	53
3.1 Introduction	53
3.2 Définition	53
3.3 Epidémiologie, prévalence et facteurs de risque de la lithiase biliaire.....	54
3.4 Différentes types de cholécystite.....	56
3.4.1 Cholécystite aiguë	56

3.4.2 Cholécystite chronique	57
3.5 Classification, composition et structure des calculs biliaires	57
3.5.1 Classification des calculs biliaires et implications cliniques et épidémiologiques.....	57
3.5.2 Composition des calculs biliaires	59
3.6 Conclusion.....	60
Références bibliographiques	61
Partie 2 : Matériel et méthodes	66
2.1 Matériel	67
2.1.1 Etude de la cristallurie	67
2.1.2 Etude de la lithiase urinaire	69
2.1.3 Etude de la lithiase biliaire	69
2.1.3.1 Analyse constitutionnelle des calculs biliaires par Microscopie Electronique à Balayage (MEB).....	70
2.1.3.2 Analyse constitutionnelle par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF)	71
2.1.3.3 Analyse constitutionnelle par Diffraction des Rayons X (DRX)	72
2.2 Méthode.....	73
Références bibliographiques	76
Partie 3 : Résultats expérimentaux.....	77
Chapitre 1. Facteurs influençant la cristallurie dans la région de Béni Mellal-Khenifra au Maroc	78
1.1 Introduction	78
1.2 Résultats et discussion.....	79
1.2.1 Répartition des patients selon le genre et l'âge	79

1.2.2 Répartition des patients selon l'origine géographique et la qualité de l'eau.....	80
1.2.3 Répartition des patients selon l'apport hydrique journalier (Litre /Jour).....	81
1.2.4 Répartition des patients selon la maladie du diabète et de l'hypertension artérielle.....	82
1.2.5 Répartition des patients selon le pH urinaire (pH _{ur}).....	84
1.2.6 Répartition des constituants majoritaires selon l'âge et le genre	85
1.2.7 Classification par la méthode de l'Analyse en Composantes Principales (ACP)	88
1.3 Conclusion.....	91
Références bibliographiques	92
Chapitre 2. Approche étiologique de la lithiase urinaire dans la région de Béni Mellal-Khénifra au Maroc.....	94
2.1 Introduction	94
2.2 Résultats et discussions	94
2.2.1 Répartition des patients selon le genre et l'âge	94
2.2.2 Répartition des patients selon l'origine géographique et la qualité de l'eau.....	95
2.2.3 Classification par la méthode de l'Analyse en Composantes Principales (ACP)	97
2.3 Conclusion.....	99
Références bibliographiques	100
Chapitre 3. Etude de la lithiase biliaire.....	102
3.1. Approche étiologique de la lithiase biliaire dans la région de Béni Mellal-Khénifra au Maroc ...	102
3.1.1 Introduction	102
3.1.2 Résultats et discussions	103
3.1.2.1 Répartition des patients selon le genre et l'âge	103

3.1.2.3 Répartition des patients selon l'apport hydrique journalier (L /J).....	105
3.1.2.4 Répartition des patients lithiasiques selon la maladie diabétique et d'hypertension artérielle	106
3.1.2.5 Répartition des patients selon des antécédents familiaux.....	107
3.1.2.6 Répartition des patients selon le type de calcul.....	108
3.1.2.7 Répartition des patients selon le type de cholécystite	109
3.1.2.8 Classification par les méthodes de l'Analyse en Composantes Principales (ACP).....	112
3.1.3 Conclusion.....	114
3.2 Composition de phase et caractérisation morphologique des calculs biliaires humains par Microscopie Electronique à Balayage, Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier et Diffraction des Rayons X.....	115
3.2.1 Introduction	115
3.2.2 Résultats et discussions	116
3.2.2.1 Analyse par Microscope Electronique à Balayage (MEB).....	117
3.2.2.2 Analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformée Fourier (TFIR)	126
3.2.2.3 Analyse par Diffraction de Rayons X (DRX)	131
3.2.3 Conclusion.....	136
Références bibliographiques	138
Conclusion générale et perspectives	147

Liste des figures

Figure 1 : Cristaux de whewellite (oxalate de calcium monohydraté) vus au microscope optique	16
Figure 2 : Agrégat de cristaux octaédriques de weddellite (oxalate de calcium dihydraté)	17
Figure 3 : Cristal hexagonal de caoxite (oxalate de calcium tri-hydraté).....	17
Figure 4 : Cristaux hexagonaux de cystine vus en lumière blanche.....	18
Figure 5 : Cristaux de 2,8 - dihydroxyadénine accompagnés par des amas polarisants d'urates amorphes complexes	19
Figure 6 : Cristal d'acide urique dihydraté de forme losange observé en lumière polarisée (pH=5,9).20	
Figure 7 : Cristaux de brushite en baguette vus en lumière polarisée.....	21
Figure 8 : Représentation des cristaux de PACC	21
Figure 9 : Différentes formes de cristaux de struvite en urine alcaline (A : Cristaux cruciformes de struvite aux contours irréguliers ; B : Cristaux rectangulaires polarisants).....	22
Figure 10 : Cristaux parallélépipédiques non rectangle de calcite vus en lumière polarisée	23
Figure 11 : Différents faciès cristallins de l'urate acide d'ammonium en urine alcaline (A : Cristaux en sphères ; B : Cristaux en cacahuètes)	23
Figure 12 : Cristaux prismatiques polymorphes de chlorhydrate polarisée	24
Figure 13 : Aiguilles et lamelles d'indinavir polarisantes et agrégées parallèlement les uns aux autres.	25
Figure 14 : Anatomie macroscopique de l'appareil urinaire.....	37
Figure 15 : Domaines de saturation dans lesquels se forment les calculs dans différents contextes pathologiques (PF : produit de formation ; PS : produit de solubilité).....	42
Figure 16 : Analyseur d'urine (URIT1600).	68
Figure 17 : Microscope Optique à Lumière Polarisée Olympus CX23.....	68
Figure 18: Grille de la cellule de Malasez.....	68

Figure 19 : Microscope Electronique à Balayage, model JEOL JSM-5500.....	71
Figure 20 : Appareil d'analyse Spectrophotométrie Infrarouge, model Jasco TFIR – 4100	72
Figure 21 : Appareil d'analyse Diffraction de Rayons X.	73
Figure 22 : Répartition des patients selon l'âge et le genre (F : féminin ; M : masculin).	79
Figure 23 : Répartition des patients selon l'origine géographique (U : urbain ; R : rural) et la qualité de l'eau (ET : eau traitée ; ENT : eau non traitée).	80
Figure 24 : Répartition des patients selon l'apport hydrique journalier (L /J).	81
Figure 25 : Répartition des patients selon la maladie du diabète (D) et d'hypertension artérielle (HA).	82
Figure 26 : Répartition des patients du diabète et d'hypertension artérielle selon le genre.	83
Figure 27 : Répartition des patients selon le pH urinaire (pH_{ur}).	84
Figure 28 : Micrographies par MOLP (grossissement de 400), A : Urate amorphe complexe ; B : Acide urique monohydraté ; C : Acide urique dihydraté ; D : Oxalate de calcium dihydraté (weddellite) ; E : Oxalate de calcium monohydraté (whewellite) ; F : Phosphate d'ammonium et de magnésium (struvite) (forme d'aiguille) et Phosphate amorphe complexe carbonaté (forme de nuage sombre) ; G : Acide urique anhydre.	85
Figure 29 : Répartition des constituants majoritaires chez les hommes et les femmes.....	87
Figure 30 : Carte factorielle des individus 3D (PC1-PC2-PC3).....	89
Figure 31 : Cercles de corrélations des variables : Genre ; Age ; Origine géographique (OG) ; Qualité d'eau (Qul E) ; Quantité d'eau/jour (Qut E) ; Hypertension artérielle (HA) ; Diabète (D) ; pH urinaire (pH_{ur}) et la Cristallurie	90
Figure 32 : Répartition des patients lithiasiques urinaires selon origine géographique (U : urbain, R : rural) et la qualité de l'eau (ET : eau traitée ; ENT : eau non traitée).	96
Figure 33 : Carte factorielle des individus lithiasiques urinaires (PC1-PC2).....	97
Figure 34 : Cercles de corrélations des variables : Genre ; Age ; Origine géographique (OG) ; Qualité d'eau (Qul E) et Calcul Urinaire (Cal Uri).	98

Figure 35 : Projection des variables dans les axes PC1 et PC2.....	98
Figure 36 : Répartition des patients lithiasique biliaires selon l'âge et le genre (F: féminine ; M : masculin ; F/H : ratio).	103
Figure 37 : Répartition des patients lithiasiques biliaires selon l'origine géographique (U : urbain ; R : rural) et la qualité de l'eau (ET : eau traitée ; ENT : eau non traitée).	104
Figure 38 : Répartition des patients selon l'apport hydrique journalier (Litres/ Jours (L /J)).....	105
Figure 39 : Répartition des patients (lithiasiques biliaires) du diabète et d'hypertension artérielle selon le genre.	106
Figure 40 : Répartition des patients lithiasiques biliaires selon le type de calcul.	108
Figure 41 : Répartition des patients lithiasiques biliaires présentant des calculs avec noyau selon l'âge.....	109
Figure 42 : Distribution du type de vésicule biliaire (CSL : Cholécystite simple lithiasique ; CAL : Cholécystite aigue lithiasique ; CCL : Cholécystite chronique lithiasique ; CCLAC : Cholécystite chronique lithiasique avec cholestérol) selon le sexe dans la population totale (n =226) (n = 28 chez l'homme ; n = 198 chez la femme).....	109
Figure 43 : Distribution du type de cholécystite selon l'âge dans la population totale (n =226).....	110
Figure 44 : Prévalence du type de cholécystite	110
Figure 45 : Micrographies des types de cholécystite, par Microscopie Optique à Lumière Polarisée (MOLP) (A : Cholécystite chronique lithiasique avec cholestérol (×200) ; B : Cholécystite chronique lithiasique (×200)).....	111
Figure 46 : Carte factorielle des individus lithiasiques biliaires 2D (PC1-PC2).....	113
Figure 47 : Cercles de corrélations des variables : Genre ; Age ; Origine géographique (OG) ; Qualité d'eau (Qul E) ; Quantité d'eau/jour (Qut E) ; Hypertension artérielle (HA) ; Diabète (D) ; Type de Cholécystite (T chol) ; Type de calcul (T cal).....	113
Figure 48 : Ordre de grandeur des calculs biliaires de la présente étude.	116
Figure 49 : Micrographies par MEB des calculs biliaires humains de la présente étude ((a) Calcul biliaire de cholestérol pur (b et c) ; Calcul biliaire de cholestérol mixte.....	117

Figure 50 : (a) Calculs de cholestérol pur ; (b, c et d) Calculs de cholestérol mixtes.	118
Figure 51 : Analyse en composantes principales sur 20 calculs biliaries. Projection des variables dans le plan des deux premier facteurs PC1 et PC2.	124
Figure 52 : Cercle de corrélation des différents éléments chimiques constituant les calculs biliaries étudiés par l'ACP.	125
Figure 53 : Carte factorielle d'ACP dans le plan (PC1-PC2).	126
Figure 54 : Spectre infrarouge à transformée de Fourier (IRTF) d'un calcul biliaire de cholestérol pur.	127
Figure 55 : Spectres infrarouges à transformée de Fourier (IRTF) des calculs biliaries de cholestérol mixtes (cholestérol, bilirubinate de calcium, carbonate de calcium et phosphate de calcium).	128
Figure 56 : Diffraction des rayons X d'un échantillon de calcul biliaire de cholestérol pur (* cholestérol).	131
Figure 57 : (A) Spectre de cholestérol pur ; (B) Spectre de cholestérol de référence.	132
Figure 58 : Spectres DRX de différents types de calculs biliaries (* Cholestérol (CM : Cholestérol monohydraté ; CA : Cholestérol anhydre) + Sels de calcium (bilirubinate de calcium, carbonate de calcium et phosphate de calcium)).	134

Liste des tableaux

Tableau 1: Nature des anions et des cations responsables de la formation d'espèces chimiques peu solubles dans les urines humaines.	9
Tableau 2: Nom chimique, nom minéralogique et formule chimique des quelques espèces cristallines observées dans les urines.....	10
Tableau 3: Sensibilité au pH et pH moyen d'observation des principales espèces cristallines.	12
Tableau 4 : Répartition de la fréquence du constituant majoritaire de la cristallurie, selon l'âge chez les hommes (N = 62) : Oxalate de calcium monohydraté (whewellite)(OCM) ; Oxalate de calcium dihydraté (weddelite)(OCD) ; Acide urique monohydraté (AUM) ; Acide urique dihydraté (AUD) ; Acide urique anhydre (AUAn) ; Urate amorphe complexe (UAC) ; Phosphate amorphe complexe carbonater (PACC) et Phosphate d'ammonium et de magnésium (PAM).....	86
Tableau 5 : Répartition de la fréquence du constituant majoritaire de la cristallurie, selon l'âge chez les femmes (N = 86) : Oxalate de calcium monohydraté (whewellite)(OCM) ; Oxalate de calcium dihydraté (weddelite)(OCD) ; Acide urique monohydraté (AUM) ; Acide urique dihydraté (AUD) ; Acide urique anhydre (AUAn) ; Urate amorphe complexe (UAC) ; Phosphate amorphe complexe carbonater (PACC) et Phosphate d'ammonium et de magnésium (PAM).....	86
Tableau 6 : Répartition des patients selon le genre et l'âge.....	95
Tableau 7 : Variations morphologiques, histologiques et élémentaires des calculs biliaires.....	119
Tableau 8 : Classification des calculs biliaires d'après Biehler-Gomez et al.....	119
Tableau 9 : Eléments présents dans les calculs biliaires de présent travail.....	120
Tableau 10 : Bandes d'absorption IRTF (cm^{-1}) caractéristiques des 3 principaux constituants du calcul biliaire.....	129
Tableau 11 : Comparaison des données de diffraction des rayons X pour l'échantillon de calcul biliaire de cholestérol pur (C1) avec le cholestérol standard (JCPDS).	133

Liste des abréviations

ACP	Analyse en Composantes Principales
AUM	Acide urique monohydraté
AUD	Acide urique dihydraté
AUAn	Acide urique anhydre
AUA	Acide urique amorphe
CaOxite	Oxalate de calcium trihydraté
Ca/Ox	Calcium / Oxalate
CAL	Cholécystite aiguë lithiasique
CCLAC	Cholécystite chronique lithiasique avec cholestérol
CSL	Cholécystite simple lithiasique
CCL	Cholécystite chronique lithiasique
D	Diabète
ET	Eau traitée
ENT	Eau non traitée
H/F	Homme/femme
HA	Hypertension artérielle
LB	Lithiase biliaire
MOLP	Microscopie Optique à Lumière Polarisée
MEB	Microscopie électronique à balayage
OG	Origine géographique
OCM	Oxalate de calcium monohydraté (whewellite)
OCD	Oxalate de calcium dihydraté (weddelite)
PcaOx	Produit d'oxalate de calcium
pH_{ur}	pH urinaire

PACC	Phosphate amorphe complexe carbonater
PAM	Phosphate d'ammonium et de magnésium
Q_{ul} E	Qualité d'eau
Q_{ut} E	Quantité d'eau/jour
R	Rural
T chol	Type de Cholécystite
T cal	Type de calcul
UAC	Urate amorphe complexe
UASM	Urate acide de sodium monohydraté
U	Urbain
VCG	Volume cristallin global
VBP	Voie biliaire principale

Liste des Notions

Lithiase	Maladie qui se manifeste par la formation des concrétions appelées calculs dans un appareil excréteur (rein, bile, vessie, uretère, etc.)
Cristallisation	Processus de formation des cristaux (la présence de cristaux dans les urines)
Apport hydriques	Consommation de l'eau
Voies biliaires	Parois de la bile
Voies urinaires	Parois de l'appareil urinaire
Whewellite	Oxalate de calcium monohydraté
Weddellite	Oxalate de calcium dihydraté
Struvite	Phosphate ammoniaco-magnésien hexa-hydraté

AVANT-PROPOS

Cette thèse a été réalisée au sein de l'Equipe de Chimie Analytique et Computationnelle, Nanotechnologie et Environnement (**ECACNE**), au Laboratoire de l'Ingénierie en Chimie et Physique de la Matière (**LICPM**) de la Faculté des Sciences et Techniques Beni Mellal (**FSTBM**) sous la direction des professeurs **Malika ECHAJIA** et **Mohamed MBARKI**, et Laboratoire d'Ingénierie et Technologie Alimentaire (**LITA**) de l'Ecole Supérieure de Technologie Beni Mellal (**ESTBM**) sous la direction du professeur **Mohamed BERKANI**.

Les Partenaires :

- **Université Sultan Moulay Slimane, Maroc**
- **Centre Hospitalier Régional Béni Mellal, Maroc**
- **Université Sultan Moulay Ismail, Maroc**
- **Université Cadi Ayyad de Marrakech, Maroc**

Liste des publications, communications et stages

Revue internationale

1. **Mohamed BOUHA**, Malika ECHAJIA, Aimen EL ORCHE, Younes AASSEM, Mustapha OUBENALI, Hasna BAALLAL, Mohamed BOUZAIID, Ahmed GORFTI, Mohamed BERKANI, Mohamed MBARKI, “Etiological Approach of Cholelithiasis in the Beni Mellal-Khenifra Area in Morocco,” International Journal of Science and Research, 8.10 (2018): 1072-1078.
2. **Mohamed BOUHA**, Malika ECHAJIA, Souad MOJAHIDI, Younes AASSEM, Mustapha OUBENALI, Tarik EL OUAIFY, Mohamed BERKANI and Mohamed MBARKI “Approach to Determine Crystalluria Influencing Factors in the Beni Mellal-Khenifra Area in Morocco, by Data Analysis,” Biosciences Biotechnology Research Asia, 18.2 (2021): 327.
3. Younes AASSEM, **Mohamed BOUHA**, Rachid BOUHDADI, Mustapha EL BIR, BATOUI SANAE, Ahmed GAMOUH, Mohamed MBARKI, “Study on the Inhibitory Effect of the Aqueous Extract from the Jujube Pulp against the Crystallization of the Calcium Oxalate,” International Journal of Science and Research, 8.9 (2019): 64-67.
4. Younes AASSEM, **Mohamed BOUHA**, Rachid BOUHDADI, Mustapha EL BIR, Ahmed GAMOUH, Mohamed MBARKI, “Inhibitory effect of aqueous extracts for carob, lemon and orange pulp on the crystalluria of lithiasic patients,” International Journal of Innovation and Applied Studies, 27.2 (2019): 678-685.
5. Aimen El ORCHE, Mustapha BOUTIA, Siham YANISSE, Houda LABJAR, Mouad MOUHSIN, **Mohamed BOUHA**, Mustapha OUBENALI, and Mohamed MBARKI, “Evaluation of the capability of horizontal ATR-FTMIR and UV-visible spectroscopy in the discrimination of virgin olive oils from the Moroccan region of Beni Mellal-Khenifra. Journal of Spectroscopy, 2020 (2020).

Conférences internationales

6. **Mohamed BOUHA**, Malika ECHAJIA, Mohamed BERKANI, Tarik EL OUAIFY, Mohamed MBARKI, Mustapha OUBENALI, “Influence of geographical origin, water quality and water intake on the presence of cholelithiasis in the Beni Mellal-Khenifra region” 2^{ème} Workshop Technique de la Métrologie, 27-28 Mai 2022, FST Béni Mellal, Maroc.
7. **Mohamed BOUHA**, Malika ECHAJIA, Mohamed BERKANI, Mohamed MBARKI, “Classification pour détermination de facteurs influençant la cristallurie dans la région de Béni Mellal-Khenifra au Maroc, par analyse des données”, 7th International Meeting on Chemometrics and Quality, 24-25 October 2018, FST Fes, Maroc.

8. **Mohamed BOUHA**, Malika ECHAJIA, Souad RABI, Hassna BAALLAL, Souad MOJAHIDI, Mohamed BERKANI, Mohamed MBARKI, “Influence de la zone géographique, la qualité d’eau et l’apport hydrique sur la présence de la lithiase biliaire dans la région de Béni Mellal-Khénifra”, 1^{ère} Journée scientifique sur l’Environnement et Climat Béni Mellal, Maroc, 14 Juin **2019**, EST-FST Béni Mellal, Maroc.
9. **Mohamed BOUHA**, Malika ECHAJIA, Hasna BAALLAL, Mohamed BERKANI, Mustapha OUBENALI, Tarik EL-OUAFY, Mohamed MBARKI, “Classification pour détermination de facteurs de risque de la lithiase biliaire dans la région de Béni Mellal-Khénifra”, 6^{ème} Journée Scientifique Nationale de l’Environnement & de la Santé sous le thème Environnement, Santé pour une Approche Cohérente, 17décembre **2020**, FST Mohammedia, Maroc.
10. **Mohamed BOUHA**, Malika ECHAJIA, Souad MOJAHIDI, Mohamed BERKANI, Mustapha OUBENALI, Tarik EL-OUAFY, Mohamed MBARKI, “Etude des Facteurs influençant la cristallurie et son rôle dans le diagnostic de lithiase rénale dans la région de Béni Mellal-Khenifra au Maroc”, Les 1^{ères} Journées Scientifiques Internationales : « Modélisation moléculaire : enjeux d’application à la lutte contre les maladies émergentes », 25-26 Décembre **2020**, FSBM Casablanca, Maroc.
11. Abdelghani BOUSSETTA, Anas AIT BENHAMOU, **Mohamed BOUHA**, Mohammed EL IDRISSE, Amine MOUBARIK, “The potential contribution of bio-adhesives to climate change: development of sustainable lignin based adhesives for engineered particleboard with low formaldehyde emission”, 1st international E-conference on Climate Nexus Perspectives (I2CNP): Water Food and Biodiversity organized by the research team “Environment and Natural Resources Management” in the Higher School of Technology, Khenifra, Morocco, in June, 04th, **2020**.

Stages

12. 1^{er} stage effectué au Centre de l’Hôpital Régional de Béni Mellal, pendant l’année 2018.
13. 2^{ème} stage effectué au Centre de l’Hôpital Régional de Béni Mellal, pendant l’année 2019.

Introduction générale

Contexte

La cristallurie est la présence de cristaux dans l'urine [Montagnac R et al., 2014]. Elle est une signature de la présence d'un excès de certains ions ou substances potentiellement cristallisables susceptibles d'engendrer des processus lithiasiques ou une altération de la fonction rénale [Daudon M., 2015 ; Bollée G et al., 2010 ; Daudon M et al., 2005 ; Daudon M et al., 2003].

L'étude de la cristallurie se définit par la recherche de cristaux dans les urines. La mise en évidence de ces cristaux constitue une aide contributive, soit au diagnostic, soit au suivi des pathologies congénitales ou acquises responsables de lithiase, d'insuffisance rénale obstructive par cristallisation néphrocalcinose [Laudat A et al., 2018]. De plus, la nature chimique des cristaux observés est susceptible de renseigner le clinicien quant aux anomalies biochimiques responsables de l'apparition de ces cristaux [Daudon M et al., 2004].

L'interprétation clinique d'une cristallurie ne doit pas se limiter à la simple présence de cristaux et à leur nature, car certains cristaux sont observés aussi bien chez un sujet normal que chez un sujet présentant un contexte pathologique (lithiase, insuffisance rénale et néphrocalcinose). La présence de cristaux signe un environnement biochimique particulier qui peut avoir un intérêt pour le clinicien. Cette information, associée à d'autres critères, peut préciser le contexte biologique et orienter spécifiquement vers certains facteurs de risque ou états pathologiques [Bouzana F., 2019 ; Daudon M., 2015].

La lithiase urinaire est une pathologie connue depuis les temps les plus reculés et s'avère indissociable de l'histoire de l'Humanité. C'est une affection fréquente qui touche, selon les pays, 3 à 20 % de la population [El Habbani R et al., 2016] et qui suit l'évolution propre des sociétés humaines [El Habbani R et al., 2016 ; Stamatelou K. K et al., 2003]. Elle résulte des causes très diverses : nutritionnelles, infectieuses et médicamenteuses dont l'identification nécessite des investigations cliniques et biologiques [El Habbani R et al., 2016].

Au Maroc, les premiers travaux réalisés sur le profil épidémiologique de la maladie lithiasique ont débuté dans la région de Meknès, de Rabat et dans le Moyen Atlas [Fatiha L et al., 2009 ; El Kabbaj S et al., 2000 ; Oussama A et al., 2000]. Toutes les enquêtes épidémiologiques montrent que l'alimentation, associée probablement à une susceptibilité individuelle, est l'un des principaux facteurs modulant le risque de formation de calculs chez l'adulte [El Jery H. K et al., 2016 ; Pak C. Y et al., 2005].

La composition des calculs urinaires est très variable, plus de 40 composants ont été identifiés faisant de la lithogénèse un processus compliqué. D'une manière générale, les différentes étiologies du calcul urinaire sont identifiées et classées en différents groupes, principalement les calculs d'origines calcique (oxalate de calcium et phosphate de calcium), urique (purin) et infectieuse (struvite) [Fatiha L et al., 2009].

Le calcul, qui est le principal témoin de la maladie, renferme des informations constitutionnelles et structurales essentielles à la compréhension de la pathologie lithiasique. Il doit donc faire l'objet d'une attention particulière car il représente un élément clé pour remonter aux causes de la maladie lithiasique et pour mettre en œuvre des mesures diététiques efficaces dans la prévention des récurrences [Djelloul Z et al., 2006].

La localisation des calculs semble être dépendante du niveau socioéconomique avec une prévalence plus élevée de localisation rénale dans les populations à niveau socioéconomique moyen ou élevé. Ce dernier influence également la nature des calculs avec une majorité de calculs d'oxalate dans les pays industrialisés [Palmero X et al., 2016 ; Daudon M et al., 2008].

Selon une étude dans la région de Rabat-Salé entre 2008 et 2013 [Sadki C et al 2017 ; Bouatia M et al., 2015], 66,6 % des lithiases rénales sont des lithiases oxalocalciques, 18,1 % d'acides uriques, 7,9 % de carbapatite, 4,4 % de struvite et 0,6 % de cystine. De même, d'autres études réalisées dans différentes régions du Maroc, et se basant sur l'analyse des calculs urinaires, ont montré des similitudes avec les pays industrialisés avec une prépondérance de la lithiase oxalocalcique [Sadki C et al 2017 ; Laziri F., 2010].

La lithiase biliaire (LB) affecte 10 à 15 % de la population occidentale adulte et est une cause majeure de recours aux soins. La lithiase de la voie biliaire principale peut être asymptomatique ou responsable de simples douleurs aiguës biliaires. Deux complications de la lithiase de la voie biliaire principale sont graves, l'angiocholite et la pancréatite aiguë biliaire [Payen J. L et al., 2011]. Les études épidémiologiques montrent que la formation de calculs biliaires est une maladie multifactorielle complexe associée aux habitudes alimentaires, à la surcharge pondérale, au genre et aux antécédents familiaux de calculs biliaires, sans qu'il y ait de preuve que des facteurs climatologiques entraînent une augmentation de la cholélithiase [Jarrar B. M et al., 2011; Abu Eshy S. A et al., 2007 ; Alsaif M. A., 2005 ; Ahmed A et al., 2000].

La composition chimique des calculs biliaires diffèrent dans diverses parties du monde et évoluent dans le temps en raison de facteurs nutritionnels, socio-démographiques [Jarrar B. M et al., 2011].

L'analyse chimique du calcul biliaire fournit, elle aussi, des preuves importantes sur l'origine, l'étiologie et aide à identifier les facteurs de risque qui prédisposent certains individus à la formation de calculs [Jarrar B. M et al., 2011 ; Abu Eshy S. A et al., 2007].

Objectifs du projet de thèse :

Le but de ce projet est de réaliser une approche rapide et robuste aux multiples facteurs influençant la présence de la cristallurie, la lithiase urinaire et la lithiase biliaire, et ce afin de déterminer leur situation épidémiologique dans la région de Béni Mellal-Khénifra. Pour ce faire, des méthodes chimiométriques ont été utilisées. Par ailleurs, la détermination de la composition chimique des calculs biliaires, retirés chez les patients recevant un traitement dans la Centre Hospitalier Régional de la province de Béni Mellal, a été effectuée moyennant différentes méthodes d'analyse. Ceci est dans le but de comprendre la pathogénie de la cholélithiase dans la région.

Organisation du manuscrit

Cette thèse comprend trois parties :

Partie 1 : Étude bibliographique sur la cristallurie, la lithiase urinaire et la lithiase biliaire

- ✚ Chapitre 1. Cristallurie
- ✚ Chapitre 2. Lithiase urinaire
- ✚ Chapitre 3. Lithiase biliaire

Partie 2 : Matériels et méthodes

Partie 3 : Présentation des résultats expérimentaux

- ✚ Chapitre 1. Facteurs influençant la cristallurie dans la région de Béni Mellal-Khenifra
- ✚ Chapitre 2. Approche Etiologique de la lithiase urinaire dans la région de Béni Mellal-Khénifra
- ✚ Chapitre 3. Etude de la lithiase biliaire : Approche Etiologique dans la région de Béni Mellal-Khénifra
- ✚ Chapitre 4. Etude de la lithiase biliaire : Composition de phase et caractérisation morphologique des calculs par Microscopie Electronique à Balayage, Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier et Diffraction des Rayons X.

Références bibliographiques

- Abu Eshy S. A., Mahfouz A. A., Badr A., El Gamal M. N., Al Shehri M. Y., Salati M. I., Rabie M. E. Prevalence and risk factors of gallstone disease in a high-altitude Saudi population. *EMHJ- Eastern Mediterranean Health Journal* (2007) ; 13 (4) : 794-802.
- Alsaif M. A. Variations in dietary intake between newly diagnosed gallstone patients and controls. *Pakistan Journal of Nutrition* (2005) ; 4(1) : 1-7.
- Ahmed A., Cheung R. C., Keeffe E. B. Management of gallstones and their complications. *American family physician* (2000) ; 61(6) : 1673-1680.
- Bouatia M., Benramdane L., Idrissi M. O. B., Draoui M. An epidemiological study on the composition of urinary stones in Morocco in relation to age and sex. *African journal of urology* (2015) ; 21(3) : 194-197.
- Bollée G., Dollinger C., Boutaud L., Guillemot D., Bensman A., Harambat J., Deteix P., Daudon M., Knebelmann B., Ceballos-Picot I. Phenotype and genotype characterization of adenine phosphoribosyltransferase deficiency. *Journal of the American Society of Nephrology* (2010) ; 21(4) : 679-688.
- Bouzana F. Etude de l'intérêt biologique et clinique de la cristallurie et détermination des inhibiteurs de l'agrégation des cristaux urinaires de type (whewellite, struvite et brushite) à partir des substances chimiques et naturelles. Thèse de doctorat. Université Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem (2019).
- Daudon M. Cristallurie. *Néphrologie et Thérapeutique* (2015) ; 11(3) : 174-190.
- Daudon M., Hennequin C., Boujelben G., Lacour B., Jungers P. Serial crystalluria determination and the risk of recurrence in calcium stone formers. *Kidney International* (2005); 67(5) : 1934-1943.
- Daudon M., Cohen-Solal F., Barbey F., Gagnadoux M. F., Knebelmann B., Jungers P. Cystine crystal volume determination: a useful tool in the management of cystinuric patients. *Urological research* (2003) ; 31(3) : 207-211.
- Daudon M., Jungers P., Lacour B. Intérêt clinique de l'étude de la cristallurie. In *Annales de biologie clinique* (2004) ; 62(4) : 379-393.
- Daudon M., Traxer O., Lechevallier E., Saussine C. Épidémiologie des lithiases urinaires. *Progrès en urologie* (2008) ; 18(12) : 802-814.
- Djelloul Z., Djelloul A., Bedjaoui A., Kaid-Omar Z., Attar A., Daudon M., Addou A. Lithiase urinaire dans l'Ouest algérien : étude de la composition de 1354 calculs urinaires en relation avec leur localisation anatomique, l'âge et le sexe des patients. *Progrès en urologie* (2006) ; 16(3) : 328.

- El Jery H. K., Harzallah A., Chouchi S., Talbi E., Baccouch H., Abdelmoula, J., Bouzouita A., Chebil M., Ben Hamida F., Abdallah, T. B. Recherche de facteurs lithogènes au cours des lithiases oxalo-calciques : enquête épidémiologique. *Progrès en Urologie* (2016) ; 26(8) : 450-456.
- El Kabbaj S., Meiouet F., El Amrani A. Analyse des calculs urinaires par spectrophotométrie infrarouge à propos de 218 cas au Maroc. *Biol Sante* (2000) ; 1(1) : 14-23.
- El Habbani R., Chaqroune A., Houssaini T. S., Arrayhani M., El Ammari J., Dami F., Chouhani B. A., Lahrichi A. Étude épidémiologique sur les calculs urinaires dans la région de Fès et sur le risque de récurrence. *Progrès en urologie* (2016) ; 26(5) : 287-294.
- Fatiha L., Fouzia R. F., Ali A., Abdelmajid, S. Correlations between the composition of Moroccan urinary stones and the risk factors (food habit). *Pakistan Journal of Nutrition* (2009) ; 8(7) : 977-982.
- Jarrar B. M., Al-Rowaili M. A. Chemical composition of gallstones from Al-jouf province of Saudi Arabia. *The Malaysian journal of medical sciences : MJMS* (2011) ; 18(2) : 47.
- Laudat A., Veillard M., Burc-Struxiano L. Comment pallier l'absence de contrôle interne de qualité pour l'analyse de la cristallurie ? In *Annales de Biologie Clinique* (2018) ; 76(3) : 345-351.
- Laziri F. Facteurs impliqués dans l'épidémiologie des calculs urinaires marocains. *Journal Marocain d'Urologie* (2010) ; 1(19) : 9.
- Montagnac R., Thouvenin M., Luxey G., Schendel A., Parent X. La cristallurie dans l'intoxication à l'éthylène glycol. *Néphrologie et thérapeutique* (2014) ; 10(6) : 475-477.
- Oussama A., Kzaiber F., Mernari B., Hilmi A., Semmoud A., Daudon M. Analyse des calculs urinaires de l'adulte dans le Moyen Atlas marocain par spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier. *Progrès en urologie* (2000) ; 10(3) : 404-410.
- Payen J. L., Muscari F., Vibert É., Ernst O., Pelletier G. Lithiase biliaire. *La Presse Médicale* (2011) ; 40(6) : 567-580.
- Pak C. Y., Odvina C. V., Pearle M. S., Sakhaee K., Peterson R. O. Y. D., Poindexter J. R., Brinkley L. J. Effect of dietary modification on urinary stone risk factors. *Kidney international* (2005) ; 68(5) : 2264-2273.
- Palmero X., Balssa L., Bernardini S., Chabannes E., Guichard G., Bittard H., Kleinclauss F. Étude rétrospective comparant la néphrolithotomie percutanée et l'urétérorénoscopie souple pour le traitement des calculs intrarénaux. *Progrès en Urologie* (2016) ; 26(9) : 500-506.
- Stamatelou K. K., Francis M. E., Jones C. A., Nyberg Jr L. M., Curhan G. C. Time trends in reported prevalence of kidney stones in the United States: 1976–1994. *Kidney international* (2003) ; 63(5) : 1817-1823.
- Sadki C., Atmani F. Évaluation de l'effet antilithiasique, oxalo-calcique et phospho-ammoniacomagnésien d'extrait aqueux d'*Erica multiflora* L. *Progrès en Urologie* (2017) ; 27(16) : 1058-1067.

**Partie 1 : Étude bibliographique sur la cristallurie, la
maladie de la lithiase urinaire et biliaire**

Chapitre 1. Cristallurie

1.1 Introduction

Depuis de nombreuses années, la précipitation de cristaux dans l'urine est reconnue comme la première étape de la formation de calculs urinaires. En conséquence, la formation de cristaux est largement utilisée dans les études expérimentales visant à évaluer les conditions physico-chimiques qui conduisent de la sursaturation de l'urine à l'apparition de calcul [Daudon M et al., 2004 ; Tiselius H. G et al., 2001].

Cependant, bien que certains rapports aient utilisé la cristallurie comme un indice de l'activité de la maladie des calculs au début des années 70, l'évaluation de routine de la cristallurie n'a pas gagné en popularité dans la pratique clinique. Comme les cristaux sont souvent présents dans l'urine de sujets normaux et non lithiasiques, un certain nombre d'auteurs ont déclaré que la présence de cristallurie ne permet pas de distinguer les personnes qui forment des calculs de celles qui n'en forment pas [Daudon M et al., 2004].

La cristallurie peut toucher les reins et les voies urinaires inférieures, peut produire des effets aigus et chroniques, et survient chez toutes les espèces de mammifères. Le plus souvent, les cristaux urinaires contiennent du calcium. De nombreuses autres substances endogènes et exogènes peuvent produire de la cristallurie [Cohen S. M., 2018].

La sursaturation urinaire et la cristallurie, fréquentes, ont suscité des études sur les modulateurs des processus au-delà de la sursaturation. Pour réduire l'apparition de l'urolithiase, il est essentiel d'élucider le mécanisme de la lithogenèse par la recherche fondamentale.

1.2 Diversité des formes cristallines

Dans la majorité des cas, plusieurs ions, dont au moins un en concentration excessive dans l'urine, vont s'associer pour former une espèce chimique insoluble (**Tableau 1**). Par exemple, le calcium peut former de l'oxalate de calcium avec les ions oxalates, du phosphate de calcium avec les ions phosphates, voire de l'urate de calcium avec les ions urates.

De la même façon, les ions phosphates se lient au calcium pour former des phosphates de calcium, au magnésium pour donner des phosphates de magnésium, à l'ammonium et au magnésium pour faire du phosphate ammoniac-magnésien, ou encore au calcium, et au magnésium pour former le phosphate mixte de calcium et magnésium (whitlockite) [Dodon M., 2015].

Tableau 1: Nature des anions et des cations responsables de la formation d'espèces chimiques peu solubles dans les urines humaines.

Anion	Cation	Espèces chimiques insolubles
Oxalate	Calcium	Oxalates de calcium (CaC_2O_4)
Carbonate	Calcium	Carbonate de calcium (CaCO_3)
Phosphate	Calcium	Phosphate de calcium ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$)
	Magnésium	Phosphate de magnésium ($(\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2)$)
	Calcium et magnésium	Phosphate calcicomagnésien ($(\text{Ca, Mg})\text{PO}_4, n\text{H}_2\text{O}$)
	Magnésium et ammonium	Phosphates ammonicomagnésiens
Urate	Proton	Acides uriques ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$)
	Sodium	Urate acide de sodium monohydraté
	Potassium	Urate amorphe de potassium
	Sodium et potassium	Urate double de sodium et potassium
	Ammonium	Urate acide de magnésium hydraté
	Calcium	Urate acide de calcium hexa-hydraté

La plupart des espèces moléculaires ainsi constituées sont capables de cristalliser sous plusieurs formes qu'il peut être important de distinguer cliniquement en raison des contextes biologiques différents qui conduisent à leur formation (**Tableau 2**) [Dodon M., 2015].

Tableau 2: Nom chimique, nom minéralogique et formule chimique des quelques espèces cristallines observées dans les urines.

Nom chimique	Espèce cristalline ou nom minéralogique	Formule
Oxalates de calcium	Whewellite	$\text{Ca}(\text{COO})_2, \text{H}_2\text{O}$
	Weddellite	$\text{Ca}(\text{COO})_2, 2\text{H}_2\text{O}$
	Caoxite	$\text{Ca}(\text{COO})_2, 3 \text{H}_2\text{O}$
Carbonate de calcium	Calcite	CaCO_3
Phosphates de calcium	Hydroxyapatite	$\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$
	Carbapatites (dahllites)	$\text{Ca}_x\text{M}_y(\text{PO}_4)(\text{CO}_3)\text{OH}$
	Brushite	$\text{CaHPO}_4, 2\text{H}_2\text{O}$
	Phosphate octocalcique pentahydraté	$\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_5(\text{HPO}_4), 5\text{H}_2\text{O}$
	Phosphates amorphes de calcium carbonatés	Diverses
Acides uriques	Uricite	$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_3\text{N}_4$
	Acide urique monohydraté	$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_3\text{N}_4, \text{H}_2\text{O}$
	Acide urique dihydraté	$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_3\text{N}_4, 2\text{H}_2\text{O}$
	Acide urique amorphe	$\text{C}_5\text{H}_4\text{O}_3\text{N}_4, n\text{H}_2\text{O}$

1.3 Déterminants de la cristallurie

La présence de cristaux dans les urines peut être considérée comme le témoin d'une rupture d'équilibre entre deux catégories de substances, d'une part les promoteurs, d'autre part les inhibiteurs de la cristallisation [Ammari Safaa., 2015]. Dans la majorité des cas, l'association de plusieurs ions, dont au moins un en concentration excessive, est nécessaire pour former une espèce cristalline. C'est particulièrement vrai pour toutes les espèces courantes observées dans les cristaux et les calculs tels que les oxalates de calcium, les phosphates calciques et magnésiens et les urates [Daudon M et al., 2012].

Les principaux facteurs cinétiques impliqués sont les promoteurs de cristallisation (particules préformées qui agissent comme des nucléants hétérogènes) et les inhibiteurs de cristallisation [Grases F et al., 2015]. Les principaux promoteurs sont les ions calcium, oxalate, urate et phosphate [Daudon M., 2015].

Les inhibiteurs de cristallisation sont spécifiques à chaque type de cristal. Trois inhibiteurs de cristallisation de l'oxalate de calcium bien connus sont le magnésium, phytate et le citrate [Grases F et al., 2015 ; Riley J. M et al., 2013]. Le magnésium agit également comme un concurrent du calcium dans la liaison de l'oxalate. Cependant, l'oxalate de magnésium est 2 ordres de grandeur plus soluble que l'oxalate de calcium, et par conséquent, il ne cristallise pas dans le rein pour former des calculs. Sur la base de cette compétition entre le magnésium et le calcium pour la fixation de l'oxalate, des sels de magnésium ont été étudiés pour le traitement de la néphrolithiase à l'oxalate de calcium chez les humains [Grases F et al., 2015]. De même, les citrates se complexifient avec le calcium, ce qui entraîne une réduction du calcium libre dans l'urine et, par conséquent, une diminution de la sursaturation en oxalate de calcium. De plus, le citrate agit comme un inhibiteur de la nucléation et de la croissance cristalline de l'oxalate de calcium [Farmanesh S et al., 2014].

Des études *in vitro* montrent que l'hydroxy-citrate a la capacité de complexer le calcium de manière équivalente à celle du citrate et qu'il est un inhibiteur efficace de la cristallisation de l'oxalate de calcium monohydraté. En fait, il a été démontré que l'hydroxy-citrate dissout les cristaux d'oxalate de calcium dans une solution sursaturée *in vitro* [Kim D et al., 2019]. Un apport élevé en calcium alimentaire peut inhiber la formation de calculs rénaux plutôt que de causer les calculs [Aassem., 2020]. Il est confirmé que la cristallisation de l'oxalate de calcium, un des principaux constituants des calculs rénaux, est inhibée par des modificateurs moléculaires, mais l'induction de l'oxalate de calcium di-hydraté et tri-hydraté, qui est également efficace pour retarder la formation des calculs, est rarement visée [Li S et al., 2020].

Outre les médicaments cliniques (tels que le citrate), des modificateurs naturels et synthétiques, notamment des macromolécules, des molécules et des ions, ont été mis au point pour interférer avec la nucléation et/ou la croissance de l'oxalate de calcium [Alamani B. G et al., 2017].

Le facteur essentiel est la sursaturation des urines en une ou plusieurs substances potentiellement cristallisables. Les deux principaux déterminants de la sursaturation et de la cristallurie qui peut en résulter sont le pH et la concentration molaire de substances qui forment les cristaux [Daudon M et al., 2012].

Certaines espèces cristallines sont relativement peu sensibles aux variations naturelles du pH urinaire, alors que d'autres en sont très dépendantes (**Tableau 3**). Pour les espèces indépendantes du pH, la cristallisation est déterminée essentiellement par leur concentration molaire excessive dans l'urine. Pour les espèces dont la sursaturation est fortement influencée par le pH, les cristaux peuvent se former dans certaines plages de pH pour des concentrations molaires normales, voire basses [Daudon M., 2015 ; Ammari S., 2015].

Tableau 3: Sensibilité au pH et pH moyen d'observation des principales espèces cristallines.

Espèce cristalline		Sensibilité au pH urinaire	pH moyen (domaine de pH habituel de formation)
Oxalates de calcium	Whewellite	Faible	6,2 (4,8–7,5)
	Weddellite	Faible	6,1 (4,8–7,5)
Acide urique	Acide urique monohydraté	Forte	5,5 (4,7–6,3)
	Acide urique di-hydraté	Forte	5,5 (4,7–6,3)
	Acide urique amorphe	Moyenne	5,8 (5,2–6,5)
Urates	Urate acide d'ammonium	Moyenne	7,7 (6,4–9,0)
	Urate acide de sodium monohydraté	Moyenne	7,3 (6,2–8,5)
Phosphates de calcium	Phosphates amorphes de calcium carbonates	Forte	7,3 (6,2–8,5)
	Phosphates amorphes de magnésium	Forte	7,9 (6,8–9,0)

1.4 Aspects méthodologiques

1.4.1 Choix du prélèvement et conditions de réalisation de l'examen

En pratique courante, trois critères doivent être respectés pour que l'étude de la cristallurie soit interprétable au plan clinique.

Le premier critère est le choix du prélèvement. Celui-ci doit refléter essentiellement l'état métabolique du patient sans pour autant mésestimer l'influence de l'alimentation (notamment chez le sujet lithiasique), mais celle-ci doit avoir un impact limité [Bouzana F., 2019].

Le second critère est le délai de conservation de l'urine après son émission. Idéalement, l'urine devrait être émise au laboratoire et examinée sans délai, mais ces contraintes techniques rendent difficile la pratique de cet examen au quotidien [Daudon M., 2015 ; Ammari S., 2015].

Le troisième critère est la température de conservation. Plus la température s'abaisse, plus la propension à la formation de cristaux augmente. Cela se traduit par une fréquence de cristallurie plus élevée, mais aussi par un plus grand nombre de cristaux formés [Daudon M., 2015 ; Ammari S., 2015].

1.4.2 Divers protocoles analytiques

L'analyse d'urine est traditionnellement effectuée dans un laboratoire central par des technologues de laboratoire médical certifiés qui utilisent un système d'analyse d'urine automatique. La microscopie des sédiments urinaires joue un rôle important dans le diagnostic clinique des maladies des voies urinaires [Chu-Su Y et al., 2017]. Plusieurs méthodes de prétraitement des urines ont été proposées dans la littérature pour étudier la cristallurie : filtration sur membrane ; centrifugations ; évaporation sous pression réduite pour uniformiser l'osmolalité ; homogénéisation de l'urine par retournement ; fractionnement de l'urine pour la soumettre à différentes procédures analytiques. La plupart de ces protocoles étaient motivés par des conditions d'examen inapplicables à la pratique quotidienne comme l'étude des cristaux en Microscopie Electronique à Balayage [Daudon M., 2015 ; Ammari S., 2015].

1.5 Réalisation pratique d'une étude de la cristallurie

1.5.1 Transfert de l'urine dans la cellule d'examen

Les urines du réveil recueillies en totalité dans un récipient propre de capacité suffisante (500 ml) et conservées à température ambiante doivent être acheminées au laboratoire dans les deux heures qui suivent la miction. A réception du prélèvement, l'urine est homogénéisée par retournement puis un prélèvement est rapidement effectué à l'aide d'une pipette est transféré dans une cellule de Malassez pour l'examen microscopique [Daudon et al., 2012].

1.5.2 Mesure du pH urinaire

Le pH urinaire est l'un des principaux paramètres influençant la lithogenèse. Il exerce une influence considérable sur plusieurs molécules promotrices et inhibitrices de la lithogenèse. Cela engendre des conséquences très importantes sur l'équilibre urinaire. Un pH acide favorise la précipitation de l'acide urique. À l'inverse, un pH basique favorise la précipitation de phosphate de calcium sous forme de phosphate amorphe de calcium carbonaté [Khouchlaa A et al., 2017]. Le pH de l'urine est mesuré au pH-mètre ou, à défaut, avec des papiers à double échelle colorée permettant d'apprécier le pH à 0,1 unité près. Cette information est très importante car la plupart des espèces métaboliques sont, soit directement, soit indirectement (variations du degré d'ionisation des inhibiteurs), sensibles au pH des urines. Le pH, mesuré avec une précision est une donnée très importante pour le clinicien [Souza A. C. P et al., 2015].

1.5.3 Examen au Microscope à Polarisation

L'examen microscopique des urines fournit des informations essentielles chez les patients atteints de maladies rénales, les cliniciens doivent également être conscients des limites de ce test. En outre, les cellules et les cristaux observés dans l'urine ne sont pas toujours reflétant la cause sous-jacente du rein maladie [Cavanaugh C et al., 2019]. L'analyse des cristaux urinaires par examen microscopique est un examen simple, pouvant apporter des renseignements précieux. La cellule de comptage placée sous le microscope optique, qui doit impérativement être équipé d'un dispositif de polarisation pour une bonne identification des cristaux, permet de réaliser une étude qualitative et quantitative de la cristallurie.

Cette dernière doit comporter une identification de toutes les espèces cristallines présentes ainsi que des faciès cristallins qui possèdent une signification biologique ou pathologique particulière.

Pour chaque espèce cristalline sont ensuite réalisées une numération des cristaux, une détermination de leurs tailles moyenne et maximale et une mensuration des agrégats. La détermination du nombre de cristaux et d'agrégats et de leurs tailles moyennes permet, pour des espèces ciblées, de faire une estimation quantitative du volume cristallin correspondant qui, dans certaines indications cliniques, peut être importante pour la prise en charge des patients [Daudon M et al., 2004].

1.6 Classification des espèces cristallines

La principale difficulté des études de la cristallurie est la reconnaissance des espèces cristallines. Le niveau de sursaturation à partir duquel les cristaux se forment rapidement, c'est-à-dire pendant le temps de transit de l'urine au travers du rein, définit un seuil de risque désigné sous le terme de produit de formation. À partir de ce seuil peuvent se manifester la lithogénèse.

Le produit de formation dépend de la composition de l'urine. Il varie d'un individu à l'autre et, dans de moindres proportions, chez un même individu, d'un prélèvement à l'autre. Ce seuil est propre à chaque substance cristalline [Coulibały I., 2014]. En effet, indépendamment de leur diversité, la plupart des substances cristallines peuvent se présenter sous différentes morphologies [Fogazzi G. B., 2010].

1.6.1 Espèces cristallines indépendantes du pH

Il n'y a pas beaucoup de cristaux indépendants de la concentration du pH. Il s'agit principalement de cristaux d'oxalates de calcium et de cholestérol (rarement présent dans l'urine) [Katica M et al., 2020].

1.6.1.1 Oxalates de calcium

Trois espèces cristallines distinctes de l'oxalate de calcium peuvent être observées dans les urines humaines, qui sont, par ordre de fréquence : La forme dihydraté ou weddellite, forme monohydratée ou whewellite et la forme trihydraté.

La cristallisation oxalocalcique est la forme de cristallurie la plus fréquente dans les urines humaines. Cela tient à la très faible solubilité de l'oxalate de calcium et au fait que la plupart des urines sont ainsi sursaturées, à des degrés divers, vis-à-vis de cette espèce moléculaire [Ammari Safaa., 2015 ; Daudon et al., 2012].

La forme cristalline observée dépend principalement (mais pas exclusivement) du rapport molaire calcium/oxalate ($r_{Ca/Ox}$). S'il est inférieur à 5, ce qui correspond à des contextes d'hyperoxalurie avec calciurie normale ou basse, il se forme essentiellement de la whewellite (**Figure 1**) [Daudon M et al., 2004].

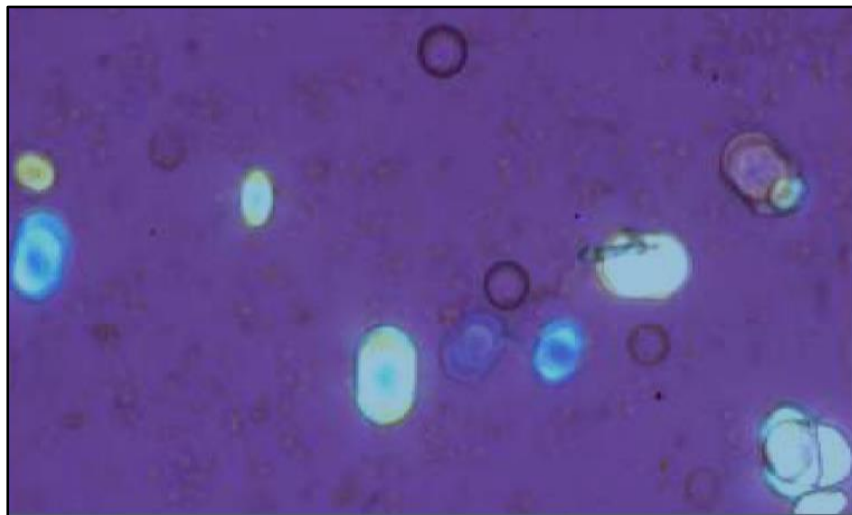


Figure 1 : Cristaux de whewellite (oxalate de calcium monohydraté) vus au microscope optique [Ammari S., 2015].

A l'inverse s'il est supérieur à 14, ce qui correspond à des situations d'hypercalciurie avec oxalurie normale ou seulement modérément augmentée, la cristallisation de l'oxalate de calcium dans l'urine se fait essentiellement sous la forme de weddellite (**Figure 2**) [Ammari S., 2015].



Figure 2 : Agrégat de cristaux octaédriques de weddellite (oxalate de calcium dihydraté) [Bouzana F., 2019].

La caoxite (**Figure 3**), forme courante de l'oxalate de calcium, est une espèce rarement dans les urines humaines, probablement parce que sa formation est inhibée par des macromolécules naturellement présentes dans les urines, comme le suggèrent certaines travaux déjà anciens [Daudon M et al., 2012; Ammari S., 2015] ou par-ce que la caoxite est très instable à 37°C et se convertit spontanément en whewellite en quelques heures, ce qui fait qu'on ne l'observe pas dans les urines émises après un séjour vésical de plusieurs heures [Daudon M et al., 2012].

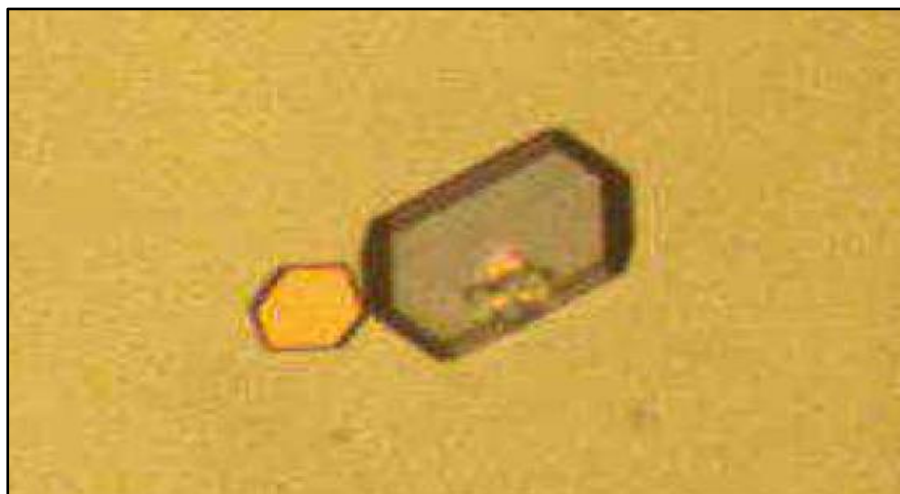


Figure 3 : Cristal hexagonal de caoxite (oxalate de calcium tri-hydraté) [Ammari S., 2015].

1.6.1.2 Cystine

Les cristaux de cystine, qui se présentent sous forme de lamelles hexagonales ayant une forte tendance au maclage, c'est-à-dire à l'initiation de nouveaux cristaux à partir du corps d'un cristal préformé [Abichequer V et al., 2017] (**Figure 4**).

Les cristaux de cystine sont typiques des patients atteints de cystinurie. Il s'agit d'une maladie héréditaire récessive caractérisée par une absorption déficiente, au niveau des tubules rénaux, de la cystine et des acides aminés dibasiques. L'identification de cristaux typiques dans l'urine est un indice pour le diagnostic. La possibilité de trouver des cristaux de cystine dans l'urine est augmentée par un pH acide, car la cystine est très soluble à un pH alcalin. Récemment, il a été démontré que la mesure en série du volume de cystine est un outil utile dans le suivi des patients atteints de cystinurie et présentant un risque de développer des calculs [Fogazzi G. B., 2010].

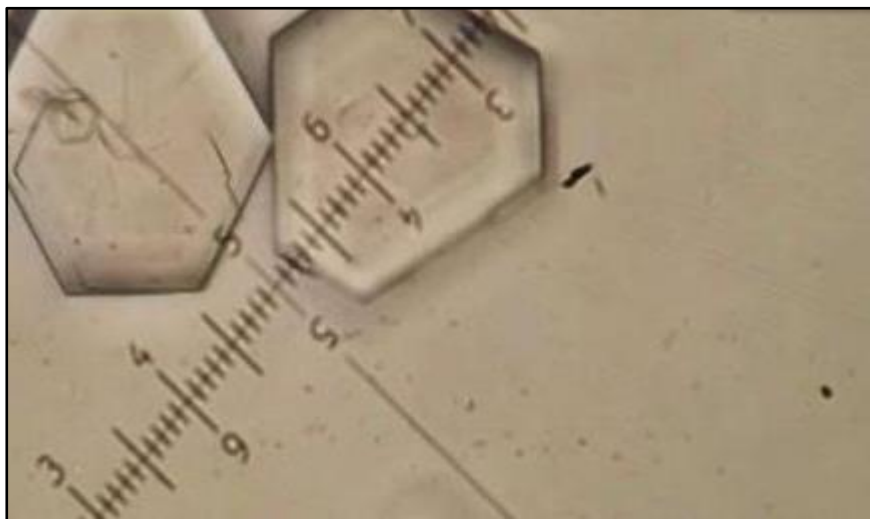


Figure 4 : Cristaux hexagonaux de cystine vus en lumière blanche [Bouzana F., 2019].

1.6.1.3 Dihydroxyadénine

L'urolithiase à 2, 8-dihydroxyadénine est le résultat d'une anomalie métabolique due à la déficience de l'enzyme, l'adénine phosphoribosyl transférase, une enzyme de récupération présente dans toutes les cellules humaines. La 2,8-dihydroxyadénine est excrétée par les reins et est insoluble dans l'urine à tout intervalle de pH physiologique, ce qui entraîne une cristallurie et une urolithiase de la 2,8-dihydroxyadénine.

La dihydroxyadénine est insensible aux variations du pH urinaire [Arancio M et al., 2011]. Elle se présente sous la forme de sphères avec un aspect particulier en lumière polarisée (**Figure 5**).

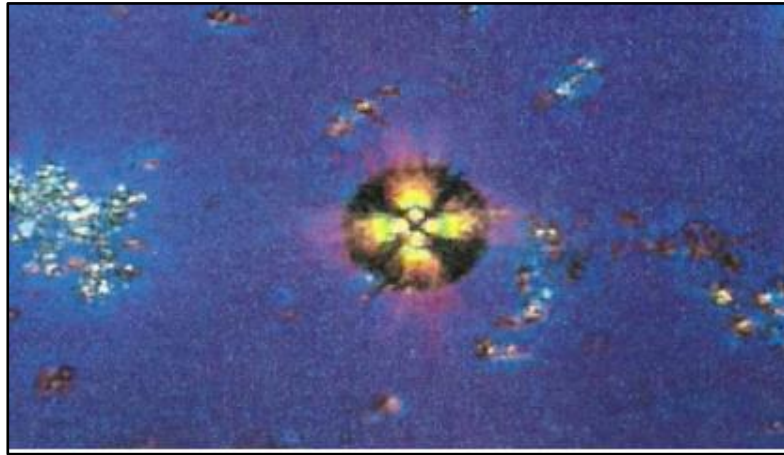


Figure 5 : Cristaux de 2,8 - dihydroxyadénine accompagnés par des amas polarisants d'urates amorphes complexes [Ammari S., 2015].

1.6.1.4 Xanthine

La xanthine cristallise dans deux situations très différentes. La première est la xanthinurie familiale, maladie héréditaire à transmission autosomique récessive due à un déficit en xanthine déshydrogénase qui empêche l'oxydation de la xanthine en acide urique [Daudon M., 2015]. Le second est le traitement de différentes pathologies génératrices d'acide urique par de fortes doses d'allopurinol pour inhiber l'enzyme [Pais Jr V. M et al., 2006 ; Sikora P et al., 2006].

1.6.2 Espèces cristallines pH-dépendantes

1.6.2.1 Acides uriques

Deux formes sont beaucoup plus fréquentes que les autres, dont l'acide urique dihydraté et l'acide urique amorphe [Larcher L et al., 2017]. Toutes les formes d'acide urique cristallisent en urine acide, mais le pH de cristallisation le plus bas est observé pour l'acide urique dihydraté (pH 5,25). Ce dernier se présente sous de multiples faciès cristallins (**Figure 6**).

Les autres formes cristallines de l'acide urique, en particulier l'acide urique anhydre et l'acide urique monohydraté sont beaucoup moins fréquentes, mais sont observées aussi en urines acides [Daudon M., 2015].

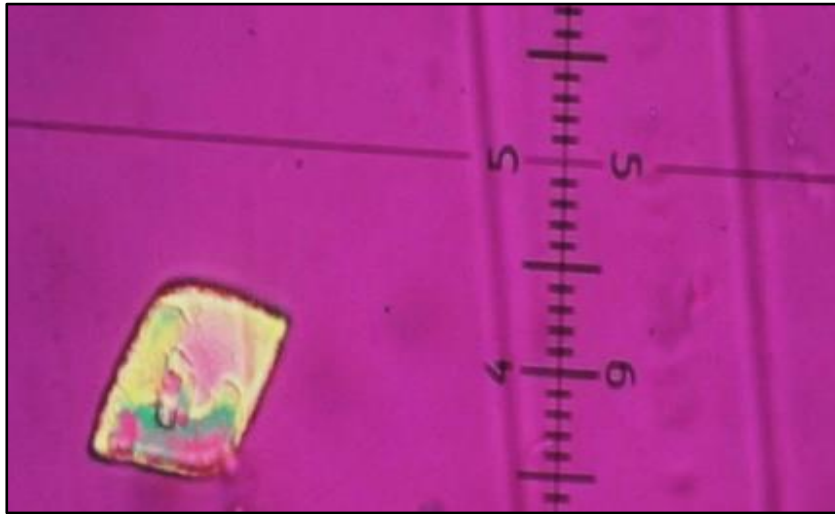


Figure 6 : Cristal d'acide urique dihydraté de forme losange observé en lumière polarisée (pH=5,9) [Bouzana F., 2019].

1.6.2.2 Protéines

Les protéines peuvent précipiter dans des urines acides. Elles se présentent sous la forme d'amas constitués de granulations grossières et de particules irrégulières non polarisantes. Ces granulations peuvent s'observer en cas de protéinurie, lorsque l'excrétion urinaire de protéines est supérieure à 300 mg/j, peut être révélateur précoce d'une pathologie rénale [Bouzana F., 2019].

1.6.2.3 Phosphates calciques

• *Brushite*

La forme la plus acide des phosphates calciques est la brushite (**Figure 7**). C'est la seule espèce phosphatique urinaire composée exclusivement d'ions HPO_4^{2-} . Son pH moyen de cristallisation est voisin de 6,4 alors que celui des autres phosphates est proche de 7 [Daudon M et al., 2010].

La brushite forme des baguettes facilement agrégées dans les urines. C'est une espèce essentiellement calcium-dépendante, mais sa cristallisation urinaire peut être renforcée par un

pH élevé de l'urine et/ou une forte concentration de phosphate. Chez les patients lithiasiques, la brushite et la weddellite peuvent être engagées dans des phénomènes de nucléation hétérogène où les deux espèces cristallines sont étroitement associées pour former des édifices cristallins de grandes dimensions [Bouzidi H et al., 2011].



Figure 7 : Cristaux de brushite en baguette vus en lumière polarisée [Ammari S., 2015].

• *Ortho-phosphates calciques*

Les autres phosphates calciques (ortho-phosphates composés de groupements PO_4) sont essentiellement pH-dépendants. La forme la plus courante est le phosphate amorphe de calcium carbonaté (PACC), qui peut se voir sous l'aspect de granulations fines ou moyennes, isolées ou plus volontiers regroupées en petits amas (**Figure 8**) [Ammari S., 2015].

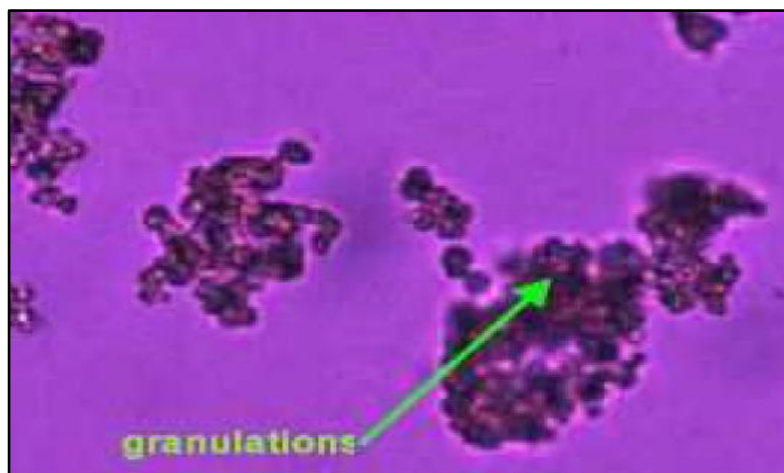


Figure 8 : Représentation des cristaux de PACC [Ammari S., 2015].

1.6.2.4 Phosphate ammoniac-magnésien hexa-hydraté ou struvite

La présence de struvite dans une urine recueillie et conservée dans de bonnes conditions peut être considérée comme un marqueur spécifique d'une infection urinaire par un micro-organisme possédante une activité uréasique. La struvite cristallise en urine alcaline et forme des cristaux de grande taille pouvant se présenter sous différents faciès (**Figure 9**) [Daudon et al., 2012].

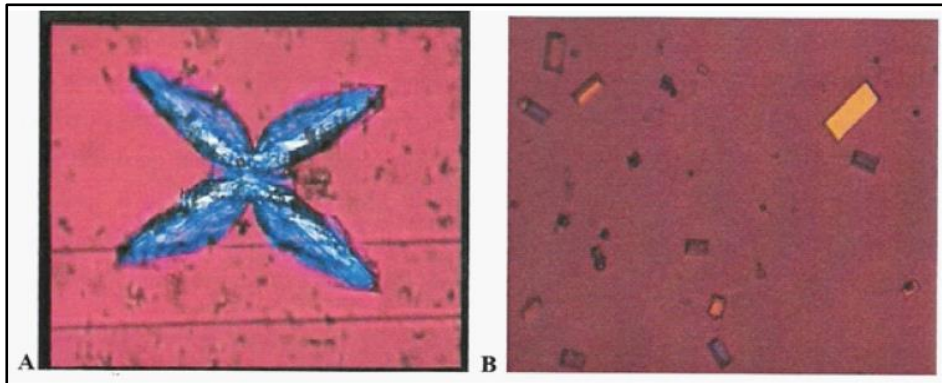


Figure 9 : Différentes formes de cristaux de struvite en urine alcaline (A : Cristaux cruciformes de struvite aux contours irréguliers ; B : Cristaux rectangulaires polarisants) [Ammari S., 2015].

1.6.2.5 Carbonates de calcium

Le carbonate de calcium existe dans les urines sous forme de calcite (carbonate de calcium anhydre). Sa présence peut résulter de plusieurs contextes : infection à germes uréasiques, ingestion de médicaments riches en carbonates et en calcium ou encore alimentation apportant une charge alcaline importante (légumes et végétaux). La calcite est malgré tout une espèce rare des urines humaines qui se présente sous plusieurs faciès cristallins fortement réfringents en lumière polarisée [Daudon et al., 2012] (**Figure 10**). En général, les ions carbonate réagissent pour former un précipité de carbonate de calcium lorsque la source de calcium est suffisante [Chen H. J et al., 2019].

Des études expérimentales et théoriques approfondies suggèrent que l'apport élevé de protéine carnées (viande, poisson, ...) conduit à une diminution du pH urinaire et de la réabsorption tubulaire du calcium et une augmentation de l'oxalurie, qui influencent de manière significative la morphologie de la calcite et la promotion de la croissance [Daudon., 2012 ; Chen C. L et al., 2014].

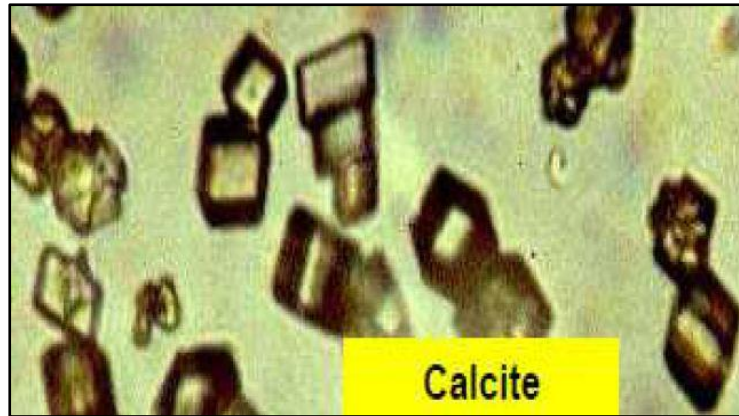


Figure 10 : Cristaux parallélépipédiques non rectangle de calcite vus en lumière polarisée [Ammari S., 2015].

1.6.2.6 Urate acide d'ammonium anhydre

En pratique, quatre urates (**Figure 11**) sont beaucoup plus fréquents que les autres en raison de leur moindre solubilité en urine alcaline. Il s'agit de l'urate acide d'ammonium anhydre, de l'urate acide de sodium monohydraté, de l'urate mixte de sodium et potassium et enfin de l'urate double de potassium, classés par ordre de solubilité croissante.

Le pH moyen de formation de l'urate acide d'ammonium est de 7,9. Cependant, son pH de cristallisation peut s'abaisser très fortement si les concentrations des ions urate et/ou des ions ammonium sont très élevées, la signification biologique et clinique des cristaux étant alors différente [Daudon et al., 2012].

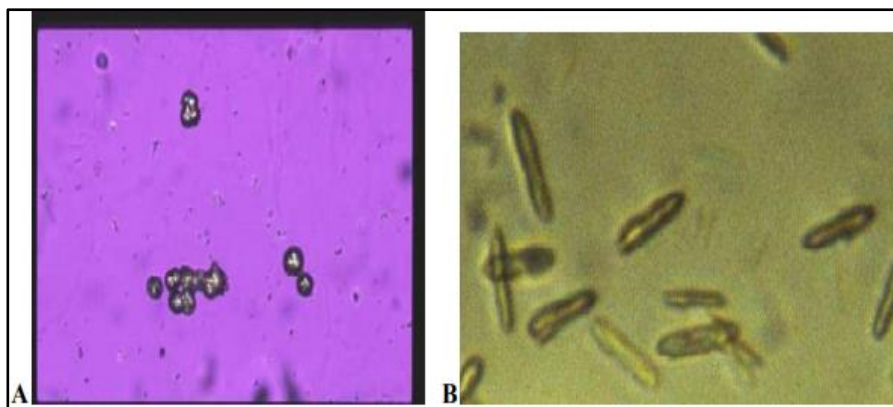


Figure 11 : Différents faciès cristallins de l'urate acide d'ammonium en urine alcaline (A : Cristaux en sphères ; B : cristaux en cacahuètes [Daudon et al., 2012].

1.6.3 Cristalluries médicamenteuses [Daudon., 2015]

Peu de molécules médicamenteuses cristallisent dans les urines. Il s'agit presque toujours de molécules utilisées à des posologies élevées qui possèdent en commun une demi-vie courte, une forte élimination par le rein et une faible solubilité de la molécule ou de l'un, voire plusieurs de ses métabolites.

• *Sulfamides*

Le plus fréquent est le chlorhydrate de N-acétylsulfaméthoxazole (**Figure 12**). Il s'agit du principal métabolite du sulfaméthoxazole. Les cristaux se forment en urine acide (pH 5,9) et ont la particularité de souvent ressembler aux cristaux de l'acide urique dihydraté avec lesquels ils sont d'ailleurs fréquemment confondus.



Figure 12 : Cristaux prismatiques polymorphes de chlorhydrate polarisée [Ammari S., 2015].

• *Antiviraux*

✓ Antiprotéases

Les antiprotéases (indinavir monohydraté, atazanavir), sont plus solubles en urine acide, mais leur solubilité n'augmente significativement qu'au-dessous de pH=5. Plusieurs antiprotéases ont été incriminées à l'origine de complications rénales fréquentes, notamment lithiase et insuffisance rénale chronique (**Figure 13**).

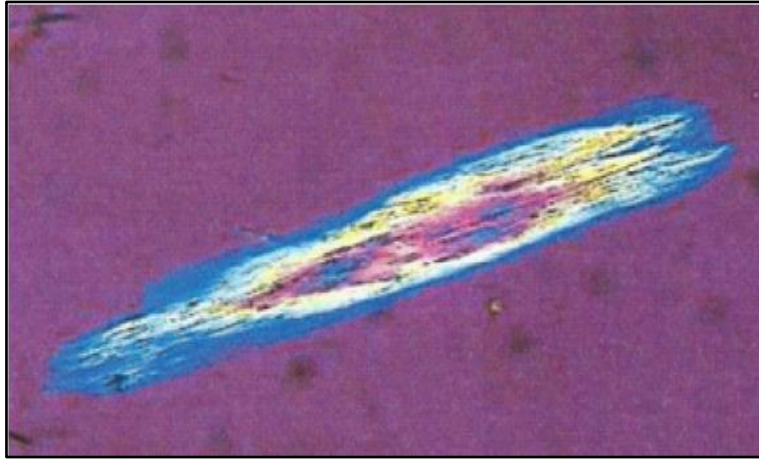


Figure 13 : Aiguilles et lamelles d'indinavir polarisantes et agrégées parallèlement les uns aux autres [Ammari S., 2015].

✓ Aciclovir

L'aciclovir s'observe sous la forme de grandes aiguilles ou baguettes très réfringentes en lumière polarisée. L'aciclovir est parfois responsable de cristalluries massives génératrices d'hématurie macroscopique et/ou d'insuffisance rénale obstructive.

1.7 Critères d'interprétation biologique et clinique d'une cristallurie

La signification clinique d'une cristallurie ne se résume pas à la simple présence de cristaux et à leur nature, d'autant que ces deux critères sont parfois peu informatifs, certains cristaux pouvant s'observer chez le sujet normal. Toutefois, la présence de cristaux, en soi, signe un environnement biochimique particulier et, associée à d'autres critères, peut préciser le contexte biologique et orienter spécifiquement vers certains facteurs de risque ou états pathologiques [Daudon M., 2015 ; Daudon M et al., 2012].

1.7.1 Nature chimique des cristaux

Le premier critère à considérer est l'espèce chimique formée, car elle révèle cet environnement biochimique particulier. Dans le cas des sels calciques, ce critère a relativement peu d'intérêt, car les facteurs qui président à la formation d'une espèce cristalline ou d'une autre de même nature chimique sont parfois très différents [Daudon et al., 2012].

- **Cystine**

Des cristaux de cystine témoignent d'une cystinurie congénitale, par anomalie du transporteur de la cystine et des acides aminés dibasiques localisés à la surface des cellules du tube contourné proximal. En tout état de cause, la présence de cristaux de cystine traduit un défaut de diurèse et/ou d'alcalinisation des urines [Traxer O et al., 2008].

Les stratégies de prévention actuelles comprennent la consommation de suffisamment de liquide buccal pour excréter plus de 3 litres d'urine par jour, un régime alimentaire pauvre en protéines et en sodium, l'alcalinisation urinaire pour diminuer la concentration de cystine et l'utilisation de thiols pour augmenter la solubilité de la cystine [Zhang Y et al., 2019].

- **Dihydroxyadénine**

Les cristaux de 2,8-dihydroxyadénine signent spécifiquement un déficit homozygote en adénine phosphoribosyltransférase [Bollée G et al., 2010], une enzyme qui assure la transformation de l'adénine en nucléotides. Bien que la révélation clinique de cette pathologie puisse être très tardive, le risque majeur qu'elle évolue vers l'insuffisance rénale terminale justifie qu'elle soit diagnostiquée rapidement et que le patient soit traité par l'allopurinol pour réduire la synthèse endogène de 2,8-dihydroxyadénine [Harambat J et al 2012].

- **Xanthine**

La xanthine s'observe dans les urines en cas d'anomalies enzymatiques de la voie des purines. Le seul traitement recommandé pour les patients atteints de xanthinurie est un régime pauvre en purine et un apport élevé en liquides.

La solubilité de la xanthine étant relativement indépendante du pH urinaire, l'alcalinisation de l'urine n'a aucun effet (contrairement aux patients atteints de lithiase d'acide urique). Il est nécessaire d'identifier de nouveaux agents capables de prévenir le développement de cristaux de xanthine dans l'urine des patients atteints de xanthinurie [Grases F et al., 2018].

- **Tyrosine**

Les cristaux de tyrosine sont très rares. Ils orientent vers une tyrosinémie familiale de type 1, maladie génétique autosomique récessive résultant d'un déficit homozygote en fumarylacétoacétase, une tyrosinémie de type 2 par déficit en tyrosine aminotransférase ou vers des atteintes hépatiques sévères [Fogazzi G. B et al., 2010].

- **Leucine**

Les cristaux de leucine sont également très rares. Ils orientent vers un déficit congénital portant sur les voies métaboliques des acides aminés ramifiés (leucine, isoleucine, valine) par déficit en alpha céto-décarboxylases [Fogazzi G. B et al., 2010].

- **Orotate de potassium**

Les cristaux d'orotate de potassium sont, eux aussi, très rares. Ils s'observent dans l'acidurie orotique héréditaire [Daudon M., 2015].

- **Struvite**

L'identification de cristaux de struvite doit orienter le clinicien vers une infection urinaire par des micro-organismes porteurs d'une uréase [Daudon et al., 2012].

- **Médicaments**

Les cristalluries médicamenteuses sont d'une grande importance clinique. En effet, lorsqu'elles se répètent dans le cadre d'un traitement chronique, elles deviennent symptomatiques dans deux tiers des cas, se traduisant par une hématurie, une insuffisance rénale, voire une lithiase, parfois les trois à la fois.

Dans certains cas, pour les sulfamides notamment, l'influence du pH sur la solubilité du médicament est un facteur essentiel et le défaut d'adaptation du pH au cours du traitement peut aussi être à l'origine des complications observées [Ammari S., 2015].

1.7.2 Importance de l'espèce cristalline

Pour les espèces chimiques communes, notamment calciques, la forme cristalline est un critère essentiel d'orientation étiologique.

- **Oxalates de calcium**

En ce qui concerne l'oxalate de calcium, qui est de loin l'espèce chimique la plus fréquente dans les cristalluries, existe sous trois formes cristallines distinctes : la whewellite, ou oxalate de calcium monohydraté, la weddellite, ou oxalate de calcium dihydraté, et la caoxite, ou oxalate de calcium trihydraté [Daudon M., 2013].

La forme hydratée la plus courante des cristaux de CaOx que l'on trouve à l'intérieur de la matrice des calculs urinaires est la whewellite puis la weddellite. Entre ces deux formes, l'oxalate de calcium monohydraté est plus pathogène, tandis que l'oxalate de calcium dihydraté est plus physiologique, car cette dernière peut être trouvée dans l'urine d'individus sains lorsqu'elle est concentrée, mais la première forme ou forme pathogène se trouve généralement dans l'urine des formateurs de calculs urinaires [Manissorn J et al., 2017 ; Vinaiphath A et al., 2017].

Plusieurs compositions dans l'urine peuvent soit favoriser soit inhiber la formation de calculs CaOx, comme le calcium, l'oxalate, le citrate, les protéines, les macromolécules et le pH [Manissorn J et al., 2017].

- **Phosphates de calcium**

Parmi les phosphates de calcium, on distingue :

- ✓ Les orthophosphates calciques comme la carapatite, le phosphate octocalcique pentahydraté et le phosphate amorphe de calcium carbonaté. Ces espèces sont essentiellement dépendantes du pH et, à un moindre degré, de la calciurie.

- ✓ La brushite (phosphate acide de calcium dihydraté), qui, comme tous les phosphates, dépend du pH urinaire. Cependant, contrairement aux orthophosphates, la brushite est une espèce fortement dépendante de la calciurie et de la phosphaturie et, à un moindre degré, de la citraturie [Daudon M et al., 2010 ; Daudon M., 2013].

- **Acide urique**

Parmi les acides uriques, dont on connaît actuellement quatre formes cristallines distinctes, citons les deux plus fréquentes, l'acide urique dihydraté et l'acide urique amorphe. La concentration urinaire d'acide urique dépend du pH de l'urine, du volume d'urine et de l'excrétion d'acide urique. Le pH urinaire est le facteur le plus important de la solubilité de l'acide urique [Abou-Elela A., 2017] L'urolithiase à l'acide urique est généralement associée à un pH urinaire faible et persistant [Vijaya T et al., 2013].

1.7.3 Faciès cristallin

Les cristaux urinaires peuvent se présenter sous différentes morphologies ou faciès dont quelques-uns ont pu être rattachés à des environnements pathologiques particuliers [Daudon., 2012].

En ce qui concerne la whewellite, le faciès en hexagones et en navettes étirés s'est affirmé comme un marqueur des hyperoxaluries avec acidose métabolique induites par les intoxications à l'éthylène glycol. Dans le cas de la weddellite, le faciès dodécaédrique a été corrélé à l'hypercalciurie. La proportion d'urines contenant des cristaux dodécaédriques de weddellite augmente régulièrement en parallèle avec l'élévation de la calciurie. De fait, lorsque la concentration du calcium dépasse 7 mmol/L, près de 90 % des cristalluries oxalocalciques contiennent de la weddellite dodécaédrique [Daudon M., 2015].

1.7.4 Taille des cristaux

Plusieurs études ont indiqué que les cristaux urinaires diffèrent souvent en taille et en phase cristalline entre les humains en bonne santé et les patients souffrant de calculs rénaux. Par exemple, le nombre de gros cristaux (taille 12 μm) dans l'urine des patients est supérieur à celui des humains en bonne santé, représentant 16 % à 65 % de la totalité des cristaux dans l'urine des patients, alors que ces gros cristaux étaient de 13 % dans l'urine des humains en bonne santé. Ainsi, la différence de taille des cristaux urinaires peut affecter la formation de calculs rénaux [Sun X. Y et al., 2015].

1.7.5 Abondance de la cristallurie

Celle-ci peut s'évaluer par deux critères : le nombre de cristaux par mm^3 et le volume cristallin par mm^3 . Ces deux notions ont trouvé des applications cliniques [Daudon J., 2012].

1.7.5.1 Nombre de cristaux

Selon les théories de la cristallisation, un nombre élevé de cristaux traduit une sursaturation importante pour l'espèce considérée. L'intérêt de ce paramètre est modulé par le fait qu'il existe une relation complexe entre le nombre et la taille des cristaux et la cinétique de la cristallisation. La notion de nombre de cristaux prise isolément est souvent insuffisante pour en tirer une information clinique pertinente. Toutefois, certaines situations pathologiques peuvent trouver une signature intéressante au travers du nombre de cristaux [Daudon M et al., 2012].

1.7.5.2 Volume cristallin global

Les paramètres de la cristallurie permettent de déterminer le volume cristallin global, et ainsi d'optimiser le traitement médical en fonction de la situation clinique identifiée. Les notions de nombre et de taille des cristaux et agrégats sont parfois difficiles à manipuler, en particulier pour les intégrer efficacement parmi les données utilisées pour la prise en charge médicale d'un patient. C'est pourquoi la notion de volume cristallin global (VCG) a été proposée. Elle intègre à la fois le nombre et la taille des cristaux et des agrégats pour une espèce cristalline donnée. Le VCG tient compte de la forme dominante des cristaux observés dans les urines.

Concrètement, le VCG, exprimé en $\mu\text{m}^3/\text{mm}^3$, est le produit du nombre de cristaux/ mm^3 d'urine par la dimension moyenne des cristaux exprimée en μm et par une constante qui correspond à un facteur numérique lié à la forme des cristaux pour l'espèce considérée. Le calcul du VCG a été appliqué au suivi des patients présentant une hyperoxalurie primaire parvenue au stade d'insuffisance rénale terminale et traitée par transplantation rénale ou hépatorénale ainsi qu'au suivi des patients atteints de cystinurie [Daudon M., 2013].

1.7.6 Agrégation cristalline

La citraturie pourrait être un acteur important de modulation de la cristallurie oxalocalcique et notamment de l'agrégation cristalline. En effet, il a été observé que la citraturie exerce un effet significatif sur le nombre et la taille maximale des agrégats de weddellite, ces deux paramètres ayant des valeurs plus élevées en cas de citraturie basse (< 1 mmol/L) comparativement aux urines où la citraturie est normale ou élevée (≥ 3 mmol/L) [Daudon M., 2015]. Le citrate a également des effets inhibiteurs directs à la surface des cristaux, réduisant la croissance et l'agrégation des cristaux d'oxalate de calcium [Kim D et al., 2019].

1.8 Conclusion

La cristallurie est un marqueur de déséquilibre urinaire générateur de complications rénales. Son étude est donc très importante pour l'identification des désordres biochimiques urinaires cristallogènes et leur correction. L'étude de la cristallurie est un excellent examen de laboratoire qui apporte de nombreux bénéfices pour le diagnostic et la prise en charge des pathologies rénales d'origine cristalline. Peu invasif, facile à réaliser, cet examen est à la portée de tous les laboratoires de biologie médicale. Sa réalisation dans des laboratoires de proximité permettrait une meilleure prise en charge des patients lithiasiques.

Références bibliographiques

- Ammari S. Apport de l'étude de la cristallurie dans les pathologies cristallogènes et les lithiases rénales. Thèse de doctorat, Faculte de Medecine et de Pharmacie Rabat (2015).
- Aassem Y. Valorisation antilithiasique de sous-produits agro-alimentaires : Cas de la caroube, le citron, le jujube et l'orange. Thèse de doctorat, Faculté des Sciences et Techniques Béni Mellal (2020).
- Alamani B. G., Rimer J. D. Molecular modifiers of kidney stones. *Current opinion in nephrology and hypertension* (2017) ; 26(4) : 256-265.
- Abichequer V., Lammel F., Pinho M., Manssour I. An automatic method for identification of cystine crystals in urine sediment. In *Proceedings of the Symposium on Applied Computing* (2017) : 170-173.
- Arancio M., Ranzoni S., Delsignore A., Landi G., Maffei N., Marcato M., Mina A., Martinengo C. 2, 8-Dihydroxyadenine Urolithiasis. Case Report and Literature Review. *Urologia Journal* (2011) ; 78(4) : 305-309.
- Abou-Elela A. Epidemiology, pathophysiology, and management of uric acid urolithiasis: a narrative review. *Journal of advanced research* (2017) ; 8(5) : 513-527.
- Bouzana F. Etude de l'intérêt biologique et clinique de la cristallurie et détermination des inhibiteurs de l'agrégation des cristaux urinaires de type (whewellite, struvite et brushite) à partir des substances chimiques et naturelles. Thèse de doctorat. Universite Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem (2019).
- Bouzidi H., de Brauwere D., Daudon M. Does urinary stone composition and morphology help for prediction of primary hyperparathyroidism? *Nephrology Dialysis Transplantation* (2011) ; 26(2) : 565-572.
- Bollée G., Dollinger C., Boutaud L., Guillemot D., Bensman A., Harambat J., Deteix P., Daudon M., Knebelmann B., Ceballos-Picot I. Phenotype and genotype characterization of adenine phosphoribosyltransferase deficiency. *Journal of the American Society of Nephrology* (2010) ; 21(4) : 679-688.
- Cohen S. M. Crystalluria and chronic kidney disease. *Toxicologic pathology* (2018) ; 46(8) : 949-955.
- Chu-Su Y., Shukuya K., Yokoyama T., Lin W. C., Chiang C. K., Lin C. W. Enhancing the detection of dysmorphic red blood cells and renal tubular epithelial cells with a modified urinalysis protocol. *Scientific reports* (2017) ; 7(1) : 1-10.

- Cavanaugh C., Perazella M. A. Urine sediment examination in the diagnosis and management of kidney disease: core curriculum 2019. *American Journal of Kidney Diseases* (2019) ; 73(2) : 258-272.
- Coulibaly I. Lithiase urétérale : Aspects cliniques, démarche diagnostique et thérapeutique au service d'urologie du CHU Gabriel Touré. Thèse de doctorat. Université des Sciences, des Techniques et des Technologies de Bamako (2014).
- Chen C. L., Qi J., Tao J., Zuckermann R. N., DeYoreo J. J. Tuning calcite morphology and growth acceleration by a rational design of highly stable protein-mimetics. *Scientific reports* (2014) ; 4(1) : 1-11.
- Chen H. J., Huang Y. H., Chen C. C., Maity J. P., Chen C. Y. Microbial Induced Calcium Carbonate Precipitation (MICP) using pig urine as an alternative to industrial urea. *Waste and Biomass Valorization* (2019) ; 10(10) : 2887-2895.
- Daudon M., Bouzidi H., Bazin D. Composition and morphology of phosphates stones and their relation with etiology. *Urological research* (2010) ; 38(6) : 459-467.
- Daudon M., Jungers P. Clinical value of crystalluria and quantitative morphoconstitutional analysis of urinary calculi. *Nephron Physiology* (2004) ; 98(2) : 31-36.
- Daudon M. Cristallurie. *Néphrologie et Thérapeutique* (2015) ; 11(3) : 174-190.
- Daudon M., Jungers P., Traxer O. Lithiase urinaire (1^{ère} édition). Lavoisier (2012).
- Daudon M., Jungers P., Lacour B. Intérêt clinique de l'étude de la cristallurie. In *Annales de biologie clinique* (2004) ; 62(4) : 379-393.
- Daudon M. La cristallurie : un marqueur diagnostique et pronostique des pathologies cristallogènes et des lithiases rénales. *Revue francophone des laboratoires* (2013) ; (455) : 67-73.
- Daudon J. Lithiase urinaire (2^{ème} édition). Lavoisier (2012).
- Fogazzi G. B. The urinary sediment. An integrated view. Penerbit Buku Kompas (2010).
- Farmanesh S., Ramamoorthy S., Chung J., Asplin J. R., Karande P., Rimer J. D. Specificity of growth inhibitors and their cooperative effects in calcium oxalate monohydrate crystallization. *Journal of the American Chemical Society* (2014) ; 136(1) : 367-376.
- Grases F., Costa-Bauza A., Roig J., Rodriguez A. Xanthine urolithiasis: Inhibitors of xanthine crystallization. *Plos one* (2018) ; 13(8), e0198881.
- Grases F., Rodriguez A., Costa-Bauza A. Efficacy of mixtures of magnesium, citrate and phytate as calcium oxalate crystallization inhibitors in urine. *The Journal of urology* (2015) ; 194(3) : 812-819.
- Gupta M., Bhayana S., Sikka S. K. Role of urinary inhibitors and promoters in calcium oxalate crystallisation. *Int J Research in Pharmacy and Chemistry* (2011) ; 1 : 793-798.

- Harambat J., Bollée G., Daudon M., Ceballos-Picot I., Bensman A. Adenine phosphoribosyltransferase deficiency in children. *Pediatric Nephrology* (2012) ; 27(4) : 571-579.
- Kim D., Rimer J. D., Asplin J. R. Hydroxycitrate: a potential new therapy for calcium urolithiasis. *Urolithiasis* (2019) ; 47(4) : 311-320.
- Khouchlaa A., Talbaoui A., El Idrissi A. E. Y., Bouyahya A., Lahsen S. A., Kahouadji A., Tijane M. Détermination des composés phénoliques et évaluation de l'activité litholytique in vitro sur la lithiase urinaire d'extrait de *Zizyphus lotus* L. d'origine marocaine. *Phytothérapie* (2017) : 1-6.
- Katica M., Ahmed N. H., Gradašćević N., Salkić A. A contribution to the study of crystalluria: significance in the diagnosis of metabolic and renal diseases. *Journal of Advances in VetBio Science and Techniques J AdvVetBioSci Tech* (2020) ; 5(2) : 81-89.
- Li S., Tang W., Shi P., Li M., Sun J., Gong J. A New Perspective of Gallic Acid on Calcium Oxalate Nucleation. *Crystal Growth and Design* (2020) ; 20(5) : 3173-3181.
- Larcher L., Lefevre G., Bailleul S., Daudon M., Frochot V. Dosages biochimiques urinaires dans les urines présentant des cristaux : importance de la phase préanalytique. In *Annales de Biologie Clinique* (2017) ; 75(5) : 525-530).
- Manissorn J., Fong-Ngern K., Peerapen P., Thongboonkerd V. Systematic evaluation for effects of urine pH on calcium oxalate crystallization, crystal-cell adhesion and internalization into renal tubular cells. *Scientific reports* (2017) ; 7(1) : 1-11.
- Pais Jr V. M., Lowe G., Lallas C. D., Preminger G. M., Assimos D. G. Xanthine urolithiasis. *Urology* (2006) ; 67(5) : 1084, e9-1084, e11.
- Riley J. M., Kim H., Averch T. D., Kim H. J. Effect of magnesium on calcium and oxalate ion binding. *Journal of endourology* (2013) ; 27(12) : 1487-1492.
- Souza A. C. P., Zatz R., de Oliveira R. B., Santinho M. A., Ribalta M., Romão J. E., Elias R. M. Is urinary density an adequate predictor of urinary osmolality? *BMC nephrology* (2015) ; 16(1) : 1-6.
- Sikora P., Pijanowska M., Majewski M., Bieniaś B., Borzęcka H., Zajczkowska M. Acute renal failure due to bilateral xanthine urolithiasis in a boy with Lesch-Nyhan syndrome. *Pediatric Nephrology* (2006) ; 21(7) : 1045-1047.
- Sun X. Y., Ouyang J. M., Liu A. J., Ding Y. M., Gan, Q. Z. Preparation, characterization, and in vitro cytotoxicity of COM and COD crystals with various sizes. *Materials Science and Engineering : C* (2015) ; 57 : 147-156.
- Tiselius H. G., Hallin A., Lindbäck B. Crystallisation properties in stone forming and normal subjects' urine diluted using a standardised procedure to match the composition of urine in the distal part of the distal tubule and the middle part of the collecting duct. *Urological research* (2001) ; 29(2) : 75-82.

- Traxer O., Lechevallier E., Saussine C. Lithiase cystinique : diagnostic et prise en charge thérapeutique. Progrès en urologie (2008) ; 18(12) : 832-836.
- Vinaiphath A., Thongboonkerd V. Prospects for proteomics in kidney stone disease. Expert review of proteomics (2017) ; 14(3) : 185-187.
- Vijaya T., Kumar M. S., Ramarao N. V., Babu A. N., Ramarao N. Urolithiasis and its causes-short review. J Phytopharmacol (2013) ; 2(3) : 1-6.
- Zhang Y., Luwei X., Liang K., Liuhua Z., Yuzheng G., Ruipeng J. Protective effect of salvianolic acid B against oxidative injury associated with cystine stone formation. Urolithiasis (2019) ; 47(6) : 503-510.

Chapitre 2. Lithiase urinaire

2.1 Introduction

La lithiase urinaire est une pathologie fréquente qui touche, selon les pays, de 4 à 20% de la population [Cissé B., 2020], caractérisée par la formation de calculs dans les reins ou dans les voies urinaires [Amaro C. R. P. R et al., 2015 ; Ferraro P. M et al., 2013 ; Turney B. W et al., 2012]. Au Maroc, les études réalisées sur les calculs rénaux sont peu nombreuses et se sont intéressées à la détermination de la composition des calculs dans certaines régions [Khouchlaa A et al., 2017 ; Laziri F., 2010]. Aussi, le recours à la phytothérapie (au Maroc) remonte à plusieurs siècles, et certaines plantes médicinales sont utilisées d'une manière traditionnelle pour le traitement des calculs urinaires. Parmi les plantes antilithiasiques les plus réputées, on trouve : *Herniaria hirsuta* L. (caryophyllacées), les fleurs d'*Opuntia ficus-indica* (cactacées) ou fleurs du figuier de barbarie et les styles de *Zea mays* (fabacées). Leurs propriétés antilithiasiques ont été mises en évidence par l'expérience et ne se sont jamais trouvées démenties par l'usage [Meiouet F et al., 2011].

L'étude du profil épidémiologique révèle que la lithiase évolue constamment au cours des 50 dernières années et touche 4 à 20 % de la population, avec un taux de récurrence estimé à 50 % au cours des 5 premières années, avec une prédominance de l'oxalate de calcium [Kachkoul R et al., 2018 ; Castiglione V et al., 2015].

Le processus de cristallisation des composants sursaturés de l'urine et la formation de concrétions solides peuvent être modifiés par l'activité des promoteurs et des inhibiteurs et par certains facteurs morpho-anatomiques, alimentaires et environnementaux [Doizi S et al., 2015 ; Słojewski M., 2011]. Certaines maladies héréditaires monogéniques, ainsi que des conditions mono et polygéniques de prédisposition génétique ont été associées à la formation de calculs urinaires [Mikhaylenko D. S et al., 2019; Attanasio M., 2011]. Les végétariens ont un risque plus faible de développer des calculs rénaux que les personnes ayant un régime alimentaire riche en viande [Turney B. W et al., 2014].

Dans les pays développés, la fréquence de la lithiase rénale a considérablement augmenté ces dernières décennies parallèlement à l'amélioration du niveau de vie des populations [Kaboré F. A et al., 2013].

Au Maroc, les premiers travaux réalisés sur le profil épidémiologique de la maladie lithiasique ont débuté dans la région de Fès [El Habbani R et al., 2016] et de Meknes [Fatiha L et al., 2009].

2.2 Localisation anatomique des calculs sur l'arbre urinaire

La plupart des calculs se forment initialement dans les reins et dans la vessie. Ils se bloquent généralement à 3 niveaux : à la jonction pyélorétérale, au croisement de l'uretère et des vaisseaux iliaques et à la jonction urétérovésicale. La plupart d'entre eux s'expulsent spontanément en passant à travers les divers conduits du système urinaire. Dans le cas où les calculs sont plus gros, ils bloquent l'uretère (le conduit qui relie le rein à la vessie), en provoquant de fortes douleurs génériquement appelées colique néphrétique. Selon la localisation des calculs sur l'arbre urinaire, on peut distinguer les calculs rénaux (localisés dans les reins), les calculs urétraux (localisés dans l'uretère) et les calculs vésicaux (localisés dans la vessie) [Ait Ider A., 2018]. La figure 14 ci-dessous représente les différents niveaux de localisation des calculs sur l'arbre urinaire.

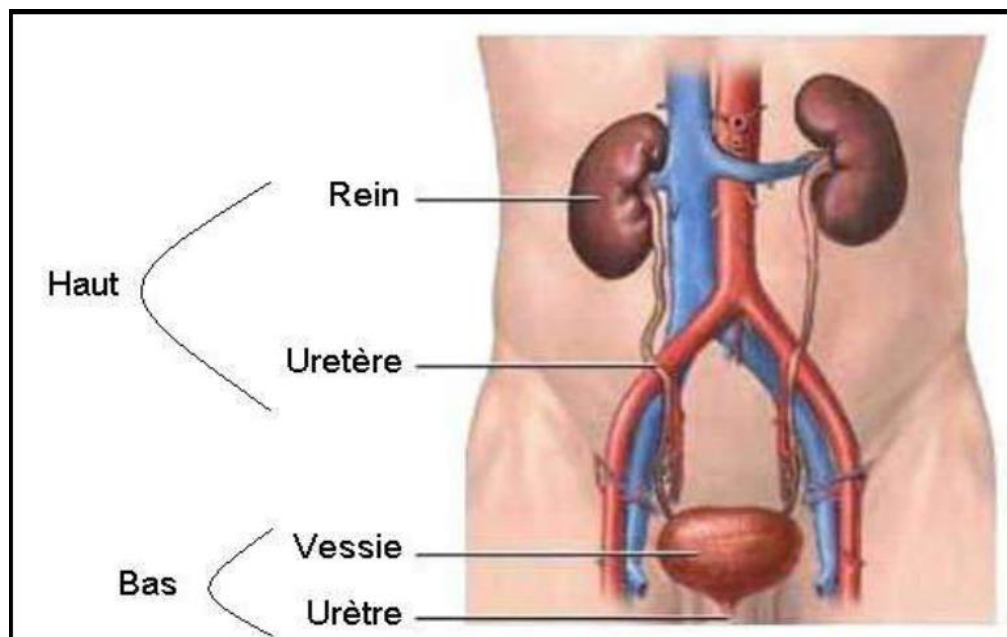


Figure 14 : Anatomie macroscopique de l'appareil urinaire [Aassem Y., 2020].

2.3 Epidémiologie et prévalence de la lithiase urinaire

L'épidémiologie des lithiases reflète le niveau socioéconomique et le degré de médicalisation des populations. Les caractéristiques épidémiologiques de la lithiase urinaire sont en perpétuelle évolution et traduisent les modifications des habitudes nutritionnelles, des conditions sanitaires, des facteurs d'environnement ou de la prévalence des pathologies qui prédisposent au risque de lithiase [Daudon M et al., 2008].

De fait, la comparaison des données disponibles dans différents pays confirme cette similitude d'évolution. Concrètement, les modifications les plus évidentes de la pathologie lithiasique à l'échelle mondiale portent sur trois points :

- ✓ Le premier est l'âge des sujets affectés par la lithiase : La lithiase urinaire est une maladie des jeunes patients, comme l'ont montré plusieurs études [Hounnasso P. P et al. 2015]. Au sein des populations dont le niveau socioéconomique est faible, la lithiase touche essentiellement les enfants, avec un rapport garçons/filles très élevé, couramment supérieur à dix et pouvant même dépasser 20 dans certains cas. À l'inverse, dans les pays industrialisés, la lithiase urinaire affecte aujourd'hui essentiellement les adultes, de la 3^{ème} à la 7^{ème} décennie et le rapport hommes/femmes (H/F) est généralement compris entre 1,5 et 2,5 et se situerait même au-dessous de 1,5 aujourd'hui, du moins aux États-Unis, comme le suggèrent certaines études récentes [Daudon M et al., 2008].
- ✓ Le second point important est la localisation anatomique initiale des calculs, qui est plutôt vésicale au sein des populations de faible niveau socioéconomique et essentiellement rénale dans les populations de niveau socioéconomique moyen ou élevé.
- ✓ Enfin, la nature des calculs est différente, essentiellement phosphatique ou urique. Au Maroc, des études épidémiologiques fragmentaires ont montré que la nature des calculs rénaux est proche de celle des pays industrialisés avec une prédominance de l'oxalate de calcium suivi de l'acide urique [Boumzaoued H et al 2015].

Des preuves de plus en plus nombreuses indiquent que l'incidence et la prévalence des calculs rénaux augmentent régulièrement dans le monde entier [Romero V et al., 2010], en particulier chez les adolescents et les femmes [Kittanamongkolchai W et al., 2018 ; Tasian G. E et al., 2016].

Il existe une variabilité géographique de la lithiase urinaire avec une prévalence plus élevée de la formation de calculs dans les zones de climat chaud par rapport au climat modéré [Alkhunaizi A., 2016 ; Brikowski T. H et al., 2008].

Une étude précédente [Romero V et al., 2010], montre que le taux dans les pays occidentaux variait de 0,1 % à 14,8 %. Cependant, en Asie, 9,6 % de la population de Taïwan était susceptible de développer des calculs urinaires supérieurs [Wang W et al., 2017]. En outre, selon les études précédentes, l'incidence de la lithiase urinaire aurait augmenté au niveau mondial [Kirkali Z et al., 2015], et aurait même presque doublé au cours des 15 dernières années (1988-1994 : 6,3% ; 2007-2010 : 10,3%) chez les hommes aux États-Unis [Scales Jr C. D et al., 2012].

Une épidémie de calculs des voies urinaires chez les jeunes enfants, la plupart âgés de moins de 36 mois, s'est récemment produite en Chine. Le 12 septembre 2008, le gouvernement chinois a annoncé que l'épidémie était très probablement liée à la contamination par la mélamine du lait en poudre pour nourrissons, et une politique de dépistage gratuit des calculs urinaires chez les enfants a été instaurée. L'ajout de mélamine aux aliments augmente la teneur apparente en protéines, puisque la mélamine contient 66 % d'azote en masse ; cette pratique secrète semble être à l'origine de la contamination des préparations pour nourrissons par la mélamine [Wang P. X et al., 2013].

La fréquence et les caractéristiques épidémiologiques de cette maladie chez l'enfant marocain restent inconnues. La majorité des études effectuées au Maroc s'intéressaient à la lithiase de l'adulte par la détermination de la composition des calculs. Ces études ont montré la prépondérance de l'oxalate de calcium monohydraté comme constituant majoritaire des calculs. Des différences importantes dans la fréquence des autres constituants, en particulier les purines, ont été rapportées [Laziri F., 2010].

2.3.1 Mécanismes de la lithogénèse

Le terme de lithogénèse regroupe l'ensemble des processus qui conduisent au développement d'un calcul dans les voies urinaires. Le calcul est une agglomération de cristaux liés par une matrice organique [Jabrane M., 2020 ; Daudon M et al., 2008].

La lithogénèse comporte plusieurs phases qui s'expriment successivement ou simultanément. Certaines étapes, qui concernent les premières étapes de la lithogénèse et que l'on peut désigner sous le terme de cristallogénèse, correspondent à la formation de cristaux à partir de substances initialement dissoutes dans les urines et ne constituent pas en soi un processus pathologique. Il est en effet bien connu que la cristallisation s'observe dans de nombreuses urines normales [Daudon M et al., 2008], traduisant l'état de sursaturation de celles-ci vis-à-vis de plusieurs solutés urinaires comme l'oxalate de calcium, l'acide urique ou le phosphate de calcium [Jabrane M., 2020].

Dans tous les cas, cependant, la première étape nécessaire à ces processus lithiasiques est la formation de cristaux urinaires à partir des substances qui sont en concentration excessive dans l'urine à cause d'un défaut de diurèse, d'un excès d'apports (alimentation, médicaments), d'un excès de production par le métabolisme endogène ou encore d'un excès d'excrétion urinaire. La sursaturation peut aussi résulter d'une anomalie du cycle de pH urinaire qui entraîne une diminution de la solubilité de la substance présente en concentration normale dans l'urine. C'est notamment le cas de l'acide urique, des phosphates calciques et des urates [Jabrane M., 2020 ; Daudon M et al., 2008].

2.3.2 Etapes de la formation des calculs

Le pH est l'un des principaux paramètres influençant la lithogénèse. Il exerce une influence considérable sur plusieurs molécules promotrices et inhibitrices de la lithogénèse. Cela engendre des conséquences très importantes sur l'équilibre urinaire [Khouchlaa A et al., 2017]. Le processus de la lithogénèse peut être décomposé en sept étapes qui se succèdent ou s'entremêlent au cours de la formation d'un calcul. Elle peut être subdivisée en deux grandes phases: la cristallogénèse, et la calcul-génèse [Aamari S., 2015].

2.3.2.1 Etapes de la cristallogénèse

Elle doit être considérée comme un processus multifactoriel non pathologique en soi, sauf cas particuliers, qui peut s'observer aussi bien chez le sujet normal que chez le sujet lithiasique. D'un point de vue strictement physicochimique, la cristallogénèse a pour objet de diminuer la sursaturation des urines en un ou plusieurs solutés dont la concentration est excessive. Elle comporte plusieurs phases [Daudon M., 2014]:

➤ *Sursaturation des urines*

La sursaturation se définit comme étant la concentration maximale d'un ou de plusieurs solutés au-delà de laquelle toute nouvelle fraction de la substance ajoutée reste insoluble [Tamosaityte, S et al., 2013]. Dans des conditions physicochimiques définies (température, pression, pH_{ur} ...), une substance peut être dissoute dans un solvant, en l'occurrence l'eau, jusqu'à une certaine concentration qui représente le produit de solubilité de cette substance dans le solvant.

La formation de calculs rénaux est un processus biologique qui implique des modifications physico-chimiques et une sursaturation de l'urine [Alelign T et al., 2018]. Le produit de solubilité est une caractéristique physique de la substance considérée. Lorsque la concentration de la substance égale son produit de solubilité, on dit que la solution est saturée vis-à-vis de cette substance. Lorsque la concentration de la substance excède son produit de solubilité, la solution est sursaturée vis-à-vis de cette substance et des cristaux de celle-ci peuvent en principe se former [Daudon M et al., 2008].

Cependant, si l'excès de concentration par rapport au produit de solubilité est modéré, la cinétique de cristallisation est très lente, ce qui n'entraîne aucun risque de formation des cristaux dans les voies urinaires. Par ailleurs, l'urine est un milieu complexe de composition très fluctuante qui contient des molécules ou des ions (électrolytes, acides organiques, macromolécules...) susceptibles d'interagir avec les composantes de la substance cristallisable. À cause de cela, le risque de faire des cristaux ne devient réel que pour des niveaux de sursaturation élevés compris entre 2 et 20 selon la substance et son environnement (**Figure 15**) [Daudon M et al., 2008].

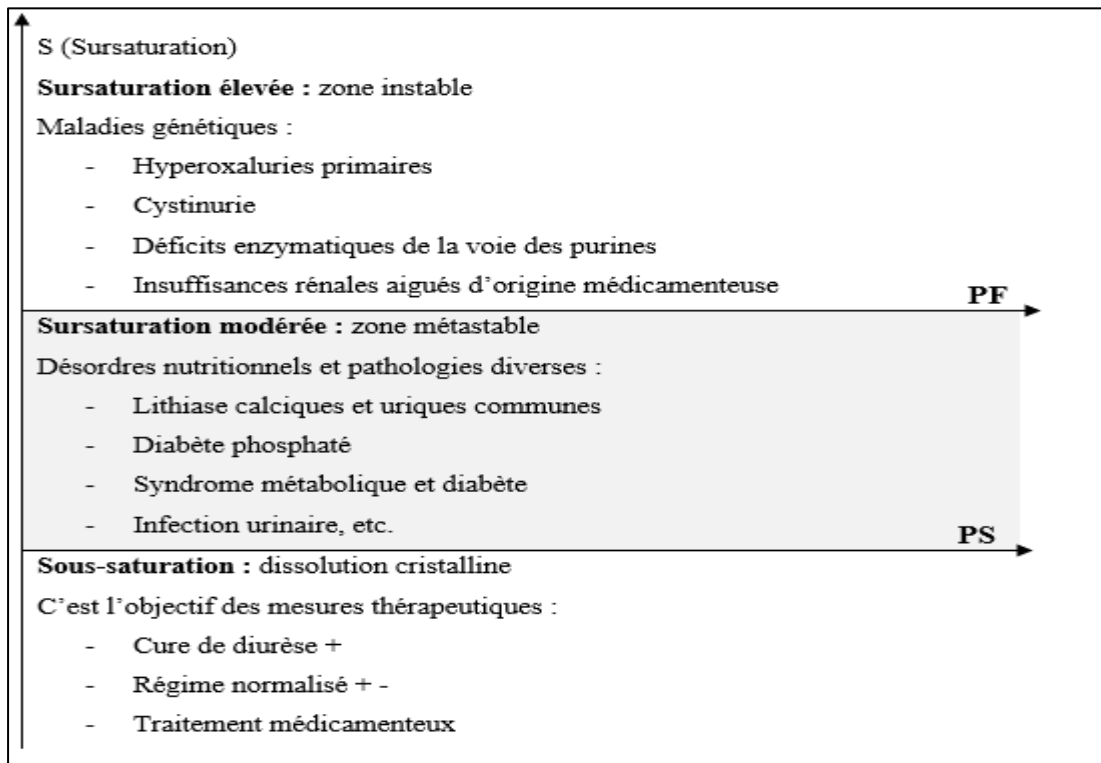


Figure 15 : Domaines de saturation dans lesquels se forment les calculs dans différents contextes pathologiques (PF : Produit de formation ; PS : Produit de solubilité).

➤ *Germination cristalline*

C'est le passage à l'état solide de l'espèce en sursaturation. Cette phase conduit à la formation de germes cristallins de très faible taille (particules dont la taille est comprise entre 5 et 200 nanomètres, donc des particules invisibles en microscopie optique). Lorsque le niveau de sursaturation est suffisant, les molécules dissoutes non dissociées qui se sont formées à partir des ions en solution se rassemblent pour constituer des germes cristallins. Cette étape dite de "germination" ou de "nucléation cristalline" peut s'exprimer selon deux modes différents, la nucléation homogène et la nucléation hétérogène [Ammari S., 2015].

✓ *Nucléation homogène*

La nucléation homogène correspond à la cristallisation spontanée d'une espèce dont le niveau de sursaturation est suffisant pour permettre la formation des cristaux pendant le temps de transit ou de séjour de l'urine dans telle ou telle de l'arbre urinaire.

On conçoit ainsi que la nucléation homogène au niveau tubulaire exige des valeurs de sursaturation plus élevées que celles qui sont nécessaires pour une nucléation homogène au niveau vésical par exemple [Daudon M et al., 2008]. Toutefois, ce processus est rarement seul en cause, car les urines humaines sont fréquemment sursaturées simultanément en plusieurs substances cristallisables, par exemple oxalate de calcium et phosphate de calcium, oxalate de calcium et acide urique ou urate de sodium, particulièrement chez les patients lithiasiques [Daudon M et al., 2012].

✓ *Nucléation hétérogène*

La nucléation hétérogène, qui requiert des niveaux de sursaturation plus faibles que la nucléation homogène, traduit le fait que les cristaux se forment au contact d'autres particules telles que des débris épithéliaux ou cellulaires ou des cristaux préexistants qui jouent le rôle d'inducteurs. Ce processus est considéré comme la principale cause des lithiases de l'appareil urinaire. L'acide urique, l'urate de sodium, la brushite, la carbapatite sont les principaux nucléateurs de l'oxalate de calcium qui est aujourd'hui, de très loin, le premier constituant des calculs urinaires. L'oxalate de calcium, notamment dans sa forme monohydratée, peut aussi être un nucléateur hétérogène pour l'acide urique, d'où la fréquence relativement élevée des lithiases mixtes oxalo-uriques (près de 10% des calculs) dont le noyau peut être alternativement composé d'acide urique ou d'oxalate de calcium [Daudon M et al., 2012].

➤ *Croissance cristalline*

La croissance cristalline assure la transformation des germes cristallins primitifs de quelques dizaines de nanomètres en cristaux de plusieurs micromètres ou dizaines de micromètres. Le temps nécessaire à cette croissance dépend de plusieurs facteurs, notamment la sursaturation et le flux urinaire. En pratique, ce temps est souvent supérieur à la durée de transit tubulaire de l'urine et ne permet donc pas à des cristaux nucléés dans la lumière du néphron d'atteindre une taille suffisante pour provoquer leur rétention dans les tubes rénaux dont le diamètre varie de 15 à 200 μm . Dans la majorité des lithiases, la croissance cristalline intervient surtout comme facteur d'augmentation de taille de particules qui ont été retenues dans le rein par d'autres mécanismes, en particulier par agrégation ou adhérence des cristaux à l'épithélium [Ammari S., 2015].

➤ *Agrégation cristalline*

Une sursaturation importante permet une germination nombreuse, une croissance et une agrégation cristalline rapide de cristallites, composés d'oxalates de calcium monohydraté dont la forme est lancéolée [Laffite G et al., 2016]. Contrairement à la croissance, l'agrégation cristalline, qui met en jeu des phénomènes d'attraction électrostatique en fonction de la charge superficielle des cristaux, est un processus rapide. Elle peut, de ce fait, engendrer des particules volumineuses (plusieurs dizaines ou, plus rarement, plusieurs centaines de microns) dans un délai très court, inférieur au temps de transit de l'urine à travers le rein. À cause de leur taille, mais aussi de leur forme très irrégulière et de la présence de nombreuses aspérités (cristaux anguleux), les agrégats ainsi formés sont susceptibles d'être retenus dans les segments terminaux des néphrons, sur l'épithélium papillaire ou dans les cavités excrétrices du rein. L'agrégation cristalline est considérée aujourd'hui comme une étape importante de la lithogénèse et plusieurs travaux ont montré que les urines de sujets lithiasiques avaient une moindre aptitude à réduire l'agrégation des cristaux que les urines de sujets normaux [Daudon et al., 2008 ; Laffite G et al., 2016].

2.3.2.2 Etapes de la calcul-génèse

les processus qui conduisent au développement de calculs et à leur évolution à partir des cristaux formés au cours de plusieurs étapes [Daudon M., 2014]:

➤ *Rétention des particules cristallines* [Daudon et al., 2008]

Cette étape peut être considérée comme la première étape du processus lithogène proprement dit, à partir de laquelle des particules cristallines formées au cours des différentes phases de la cristallogénèse vont être retenues dans le rein ou les voies urinaires et vont croître pour former un calcul. Quatre situations différentes peuvent être envisagées :

- ✓ L'adhésion d'un cristal ou d'un agrégat cristallin à la surface de l'épithélium tubulaire, avant son évacuation avec les urines hors du néphron.
- ✓ La rétention d'un agrégat cristallin du fait de sa taille ou/et de sa forme, à l'intérieur du néphron, notamment dans le tube collecteur.

✓ L'accrochage direct à l'épithélium papillaire ou par l'intermédiaire d'un support minéral préexistant, de cristaux ou d'agrégats formés dans le néphron puis éliminés au niveau des cavités excrétrices par le tube collecteur ou générés dans l'environnement de la papille.

✓ Le blocage ou la sédimentation dans un repli muqueux, une cavité déclive (diverticule) ou un calice rénal, des cristaux excrétés par le néphron.

➤ *Croissance du calcul*

La vitesse de croissance du calcul initié par la rétention cristalline est très variable. Lorsque la sursaturation est liée à une anomalie métabolique de forte amplitude, le calcul qui en résulte est généralement pur. Dans le cas contraire, il peut se fixer des composants divers, ce qui explique que la plupart des calculs urinaires renferment plusieurs espèces cristallines [Ammari S., 2015].

➤ *Conversion cristalline*

Ce phénomène est rarement évoqué dans la littérature récente bien que sa contribution à la composition cristalline des calculs soit tout à fait majeure. La croissance ne représente pas le seul mode d'évolution spontanée d'un calcul. Certaines espèces cristallines se transforment spontanément in vivo lorsque l'environnement biochimique du calcul change [Ammari S., 2015].

2.3.3 Promoteurs et inhibiteurs de la lithogénèse

Les urines sont un milieu de composition complexe et variable où de nombreuses substances peuvent être impliquées dans les processus de sursaturation et de cristallisation, qui favorisant la formation des cristaux (les promoteurs), les autres s'y opposant par divers mécanismes (les inhibiteurs) [Daudon et al., 2008].

➤ *Promoteurs de la lithogénèse*

Les ions qui participent à la formation des espèces insolubles sont appelés promoteurs de la cristallisation. Au nombre d'une dizaine, ils s'associent très souvent par deux ou par trois pour former une substance cristallisable qui, elle-même, peut se présenter sous plusieurs espèces cristallines [Daudon et al., 2008].

➤ *Les inhibiteurs de la lithogénèse*

Les inhibiteurs peuvent, selon leur nature, intervenir à toutes les étapes de la cristallogénèse. Ils sont présents aussi bien chez les sujets normaux que chez les patients lithiasiques, mais sont globalement moins efficaces chez ces derniers pour s'opposer à la formation des cristaux, soit parce que leur quantité est insuffisante par rapport à celle des promoteurs de la cristallisation, soit parce qu'ils présentent des modifications structurales qui altèrent leur efficacité [Rayall R. L., 2010].

2.4 Différents types de calculs

Les calculs urinaires sont un produit des processus pathologiques de bio-minéralisation dans le système urinaire [Kuta J et al., 2013]. Les calculs urinaires se composent d'environ 40 éléments [Bazin D et al., 2012]. Comme déjà signalé en haut, ces calculs sont des calcifications pathologiques, celles-ci se définissant comme toutes formes de dépôts minéraux anormaux, calciques ou non, dans un tissu, un organe ou sur un dispositif médical [Hannache B., 2014].

Les classifications actuelles des calculs urinaires sont principalement basées sur la composition chimique et des considérations épidémiologiques.

Les calculs urinaires peuvent être rassemblés au sein d'une classification comportant 6 types et 21 sous types, qui permet de classer plus de 95% des calculs de l'arbre urinaire :

- ✓ Les oxalates de calcium constituent la classe I pour la whewellite et la classe II pour la weddellite [Menard O et al., 2016 ; Hannache B et al., 2015 ; Alava A et al., 2012].
- ✓ Les calculs d'acide urique et les urates forment la classe III [Li C al., 2018; Heilberg I. P et al., 2016 ; Normand M., 2013].
- ✓ Les phosphates calciques et magnésiens, soit carbapatite, struvite, brushite, whitlockite sont rassemblés dans la classe IV [Wang S et al., 2020 ; Ye Z et al., 2018 ; Skolarikos A et al., 2015].

✓ Les calculs de cystine (Classe V) sont liés à la cystinurie. Il s'agit d'une anomalie génétique qui entraîne l'excrétion d'une quantité excessive de cystine par les reins. Ce type de calcul peut survenir dès l'enfance [Duqué M et al., 2019 ; Yachi L et al., 2018 ; Hannache B et al., 2012].

✓ Les calculs constitués de protéines sont rassemblés dans la Classe VI

Notons l'existence de calculs de l'arbre urinaire d'autre nature comme les calculs d'origine médicamenteuse [Daudon M et al., 2018 ; Fage N et al., 2017] ou les calculs constitués de purines rares liées à des maladies génétiques [Bollée G et al., 2010].

2.5 Conclusion

La lithiase urinaire, l'une des affections les plus anciennes et les plus répandues chez l'homme, a connu une révolution complète en termes de compréhension et de gestion au cours des dernières décennies.

L'épidémiologie de lithiase urinaire reflète le niveau socioéconomique et le degré de médicalisation des populations. Les caractéristiques épidémiologiques de la lithiase urinaire sont en perpétuelle évolution et traduisent les modifications des habitudes nutritionnelles, des conditions sanitaires, des facteurs d'environnement ou de la prévalence des pathologies qui prédisposent au risque de la lithiase urinaire. L'analyse des données épidémiologiques est donc essentielle pour mieux évaluer les évolutions de la maladie de la lithiase urinaire et ses relations avec les pathologies ou les facteurs de risque impliqués dans son développement et ceci selon les régions.

Références bibliographiques

- Amaro C. R. P. R., Goldberg J., Damasio P. C., Leitão V. A., Turney B., Padovani C. R., Amaro J. L. An update on metabolic assessment in patients with urinary lithiasis. *World journal of urology* (2015) ; 33(1) : 125-129.
- Attanasio M. The genetic components of idiopathic nephrolithiasis. *Pediatric Nephrology* (2011) ; 26(3) : 337-346.
- Aassem Y. Valorisation antilithiasique de sous-produits agro-alimentaires : Cas de la caroube, le citron, le jujube et l'orange. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences et Techniques Béni Mellal (2020).
- Ait Ider A. Réalisation d'un système de reconnaissance pour la détection de la lithiase urinaire. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences et Techniques Béni Mellal (2018).
- Alkhunaizi A. M. Urinary stones in Eastern Saudi Arabia. *Urology annals* (2016) ; 8(1) : 6.
- Ammari Safaa. Apport de l'étude de la cristallurie dans les pathologies cristallogènes et les lithiases rénales. Thèse de doctorat. Faculte de Medecine et de Pharmacie Rabat (2015).
- Alelign T., Petros B. Kidney stone disease: an update on current concepts. *Advances in urology* (2018) ; 2018.
- Alaya A., Hellara I., Belgith M., Nouri A., Hellara W., Neffati F., Saad H., Najjar, M. F. Étude de la composition des calculs urinaires en fonction de l'âge dans la population du centre tunisien. *Progrès en urologie* (2012) ; 22(15) : 938-944.
- Boumzaoued H., Laziri F., El Lekhlifi Z., Qarro A., El Assyry A. Prévalence hospitalière de la lithiase urinaire à l'hôpital militaire Moulay Ismail (Meknès-Maroc) Prevalence of urinary lithiasis in the Moulay Ismail Military Hospital (Meknes-Morocco). *Journal of Materials and Environmental Science* (2015) ; 6(6) : 1578-1583.
- Brikowski T. H., Lotan Y., Pearle M. S. Climate-related increase in the prevalence of urolithiasis in the United States. *Proceedings of the National Academy of Sciences* (2008) ; 105(28) : 9841-9846.
- Bollée G., Dollinger C., Boutaud L., Guillemot D., Bensman A., Harambat J., Deteix P., Daudon M., Knebelmann B., Ceballos-Picot, I. Phenotype and genotype characterization of adenine phosphoribosyltransferase deficiency. *Journal of the American Society of Nephrology* (2010) ; 21(4) : 679-688.
- Bazin D., Daudon M., Combes C., Rey C. Characterization and some physicochemical aspects of pathological microcalcifications. *Chemical Reviews* (2012) ; 112(10) : 5092-5120.
- Cissé B. Apport de l'imagerie dans le diagnostic des lithiases de l'appareil urinaire dans le service de radiologie de l'hôpital Hangadoumbo Moulaye TOURE de Gao (Doctoral dissertation, USTTB) (2020).

- Castiglione V., Jouret F., Bruyere O., Dubois B., Thomas A., Waltregny D., Bekaert A. C., Cavalier E., Gadisseur, R. Epidémiologie de la lithiase urinaire en Belgique sur base d'une classification morpho-constitutionnelle. *Néphrologie et Thérapeutique* (2015) ; 11(1) : 42-49.
- Doizi S., Raynal G., Traxer O. Évolution du traitement chirurgical de la lithiase urinaire sur 30 ans dans un centre hospitalo-universitaire. *Progrès en urologie* (2015) ; 25(9) : 543-548.
- Daudon M., Traxer O., Lechevallier E., Saussine, C. Épidémiologie des lithiases urinaires. *Progrès en urologie* (2008) ; 18(12) : 802-814.
- Daudon M. Litogénèse. *EMC-Urología* (2014) ; 46(1) : 1-14.
- Daudon M., Jungers P., Traxer O. *Lithiase urinaire* (1^{ère} édition). Lavoisier (2012).
- Duqué M., Desmons A., Thioulouse E., Baudin B. Des calculs rénaux de cystine. *Revue Francophone des Laboratoires* (2019) ; 2019(516) : 67-70.
- Daudon M., Frochot V., Bazin D., Jungers P. Drug-induced kidney stones and crystalline nephropathy: pathophysiology, prevention and treatment. *Drugs* (2018) ; 78(2) : 163-201.
- Daudon M., Traxer O., Lechevallier E., Saussine C. La lithogénèse. *Progrès en urologie* (2008) ; 18(12) : 815-827.
- El Habbani R., Chaqroune A., Houssaini T. S., Arrayhani M., El Ammari J., Dami F., Chouhani B. A Lahrichi, A. Étude épidémiologique sur les calculs urinaires dans la région de Fès et sur le risque de récurrence. *Progrès en urologie* (2016) ; 26(5) : 287-294.
- Ferraro P. M., Taylor E. N., Gambaro G., Curhan G. C. Soda and other beverages and the risk of kidney stones. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* (2013) ; 8(8) : 1389-1395.
- Fatiha L., Fouzia R. F., Ali A., Abdelmajid S. Correlations between the composition of Moroccan urinary stones and the risk factors (food habit). *Pakistan Journal of Nutrition* (2009) ; 8(7) : 977-982.
- Fage N., Sayegh J., Subra J. F., Augusto J. F., Garnier A. S. Insuffisance rénale aiguë obstructive sur lithiases bilatérales secondaires à la sulfadiazine : à propos d'un cas. *Néphrologie & Thérapeutique* (2017) ; 13(5) : 367.
- Hounnasso P. P., Avakoudjo J. D. G., Paré A. K., Brahim K., Ouattara A., Agoukpe M. M., Natchagandé G., Toré S. R., Mustapha A. B., Vodounou A. Symptomatic urinary lithiasis: epidemiology and management at urology department of university hospital of Cotonou. *Open Journal of Urology* (2015) ; 5(02) : 7.
- Hannache B. *La lithiase urinaire : Épidémiologie, rôle des éléments traces et des plantes médicinales* (Doctoral dissertation, Paris 11) (2014).
- Hannache B., Boutefnouchet A., Bazin D., Daudon M., Foy E., Rouzière S., Dahdouh A. Nature et rôle des éléments traces dans les calculs urinaires. *Progrès en urologie* (2015) ; 25(1) : 22-26.
- Heilberg I. P. Treatment of patients with uric acid stones. *Urolithiasis* (2016) ; 44(1) : 57-63.

- Hannache B., Bazin D., Boutefnouchet A., Daudon, M. Effet des extraits de plantes médicinales sur la dissolution des calculs rénaux de cystine in vitro : étude à l'échelle mésoscopique. *Progrès en urologie* (2012) ; 22(10) : 577-582.
- Jabrane M. Prise en charge thérapeutique de la lithiase de l'uretère lombaire (à propos de 40 cas). Thèse de doctorat. Université Sidi Mohamed Ben Abdellah-Fès (2020).
- Khouchlaa A., Tijane M., Chebat A., Hseini S., Kahouadji A. Enquête ethnopharmacologique des plantes utilisées dans le traitement de la lithiase urinaire au Maroc. *Phytothérapie* (2017) ; 15(5) : 274-287.
- Kachkoul R., Houssaini T. S., Miyah Y., Mohim M., El Habbani R., Lahrichi, A. The study of the inhibitory effect of calcium oxalate monohydrate's crystallization by two medicinal and aromatic plants: *Ammi visnaga* and *Punica granatum*. *Progres en Urologie* (2018) ; 28(3) : 156-165.
- Kaboré F. A., Kambou T., Zango B., Ouattara A., Simporé M., Lougué C., Lechevalier E., Karsenty, G. Épidémiologie d'une cohorte de 450 lithiases urinaires au CHU Yalgado Ouédraogo de Ouagadougou (Burkina Faso). *Progrès en urologie* (2013) ; 23(12) : 971-976.
- Kittanamongkolchai W., Vaughan L. E., Enders F. T., Dhondup T., Mehta R. A., Krambeck A. E., McCollough C. H., Vrtiska T. J., Lieske J. C., Rule A. D. The changing incidence and presentation of urinary stones over 3 decades. In *Mayo Clinic Proceedings* (2018) ; 93(3) : 291-299.
- Kirkali Z., Rasooly R., Star R. A., Rodgers G. P. Urinary stone disease: progress, status, and needs. *Urology* (2015) ; 86(4) : 651-653.
- Khouchlaa A., Talbaoui A., El Idrissi A. E. Y., Bouyahya A., Lahsen S. A., Kahouadji A., Tijane, M. Détermination des composés phénoliques et évaluation de l'activité litholytique in vitro sur la lithiase urinaire d'extrait de *Zizyphus lotus* L. d'origine marocaine. *Phytothérapie* (2017) : 1-6.
- Kuta J., Machát J., Benová D., Červenka R., Zeman J., Martinec P. Association of minor and trace elements with mineralogical constituents of urinary stones: A hard nut to crack in existing studies of urolithiasis. *Environmental geochemistry and health* (2013) ; 35(4) : 511-522.
- Laziri F. Facteurs impliqués dans l'épidémiologie des calculs urinaires marocains. *Journal Marocain d'Urologie* (2010) ; 1(19) : 9.
- Laffite G., Leroy C., Bonhomme C., Bonhomme-Coury L., Letavernier E., Daudon, M., Frochot V., Haymann J. P., Rouzière S., Lucas L. T., Bazin D., Babonneau F., Abou-Hassan A. Calcium oxalate precipitation by diffusion using laminar microfluidics: toward a biomimetic model of pathological microcalcifications. *Lab on a Chip* (2016) ; 16(7) : 1157-1160.
- Li C. C., Chien T. M., Wu W. J., Huang C. N., Chou Y. H. Uric acid stones increase the risk of chronic kidney disease. *Urolithiasis* (2018) ; 46(6) : 543-547.
- Meiouet F., El Kabbaj S., Daudon M. Étude in vitro de l'activité litholytique de quatre plantes médicinales vis-à-vis des calculs urinaires de cystine. *Progrès en urologie* (2011) ; 21(1) : 40-47.

- Mikhaylenko D. S., Prosyannikov M. Y., Baranova A., Nemtsova M. V. Genetic and Biochemical Features of the Monogenic Hereditary Kidney Stone Disease. *Biochemistry (Moscow), Supplement Series B : Biomedical Chemistry* (2019) ; 13(1) : 1-12.
- Menard O., Murez T., Bertrand J., Daille A. M., Cabaniols L., Robert M., Thuret R. Épidémiologie des calculs urinaires dans le Sud de la France : étude rétrospective monocentrique. *Progrès en urologie* (2016) ; 26(6) : 339-345.
- Normand M. Le traitement médical de la lithiase urique. *Progrès en Urologie-FMC* (2013) ; 23(3) : F77-F83.
- Oussama A., Kzaiber F., Mernari B., Hilmi A., Semmoud A., Daudon, M. Analyse des calculs urinaires de l'adulte dans le Moyen Atlas marocain par spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier. *Progrès en urologie* (2000) ; 10(3) : 404-410.
- Romero V., Akpinar H., Assimos D. G. Kidney stones: a global picture of prevalence, incidence, and associated risk factors. *Reviews in urology* (2010) ; 12(2-3) : e86.
- Ryall R. L. The possible roles of inhibitors, promoters, and macromolecules in the formation of calcium kidney stones. *Urinary tract stone disease* (2010) : 31-60.
- Słojewski M. Major and trace elements in lithogenesis. *Central European journal of urology* (2011) ; 64(2) : 58.
- Scales Jr C. D., Smith A. C., Hanley J. M., Saigal C. S. Urologic Diseases in America Project. Prevalence of kidney stones in the United States. *European urology* (2012) ; 62(1) : 160-165.
- Skolarikos A., Straub M., Knoll T., Sarica K., Seitz C., Petřík A., Türk C. Metabolic evaluation and recurrence prevention for urinary stone patients: EAU guidelines. *European urology* (2015) ; 67(4) : 750-763.
- Turney B. W., Reynard J. M., Noble J. G., Keoghane S. R. Trends in urological stone disease. *BJU international* (2012) ; 109(7) : 1082-1087.
- Turney B. W., Appleby P. N., Reynard J. M., Noble J. G., Key T. J., Allen N. E. Diet and risk of kidney stones in the Oxford cohort of the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC). *European journal of epidemiology* (2014) ; 29(5) : 363-369.
- Tasian G. E., Ross M. E., Song L., Sas D. J., Keren R., Denburg M. R., Chu D. I., Copelovitch L., Saigal C. S., Furth S. L. Annual incidence of nephrolithiasis among children and adults in South Carolina from 1997 to 2012. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology* (2016) ; 11(3) : 488-496.
- Tamosaityte S., Hendrixson V., Zelvys A., Tyla R., Kucinskiene Z. A., Jankevicius F., Pučetaitė M., Jablonskienė V., Sablinskas, V. Combined studies of chemical composition of urine sediments and kidney stones by means of infrared microspectroscopy. *Journal of biomedical optics* (2013) ; 18(2) : 027011.

- Wang W., Fan J., Huang G., Li J., Zhu X., Tian Y., Su L. Prevalence of kidney stones in mainland China: A systematic review. *Scientific reports* (2017) ; 7(1) : 1-9.
- Wang P. X., Li H. T., Zhang L., Liu J. M. The clinical profile and prognosis of Chinese children with melamine-induced kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *BioMed research international* (2013) ; 2013.
- Wang S., Zhang Y., Zhang X., Tang Y., Li J. Upper urinary tract stone compositions: the role of age and gender. *International braz j urol* (2020) ; 46(1) : 70-80.
- Ye Z., Zeng G., Yang H., Li J., Tang K., Wang G., Xu H. The status and characteristics of urinary stone composition in China. *BJU international* (2020) ; 125(6) : 801-809.
- Yachi L., Bennis S., Aliat Z., Cheikh A., Idrissi M. O. B., Draoui M., Bouatia M. In vitro litholytic activity of some medicinal plants on urinary stones. *African Journal of Urology* (2018) ; 24(3) : 197-201.

Chapitre 3. Lithiase biliaire

3.1 Introduction

La lithiase biliaire est une maladie menant à la formation de calculs dans la vésicule ou les voies biliaires. Elle est une affection plus rare chez l'enfant que chez l'adulte [Boualiten K., 2019]. Des études épidémiologiques de la lithiase biliaire ont montré qu'elle est plus fréquente chez les femmes et que sa prévalence augmente progressivement avec l'âge [Chang Y. R et al., 2013 ; Lachgar M et al., 2011 ; Djessou P. S et al., 2010]. Les calculs biliaires peuvent être asymptomatiques ou symptomatiques ; seuls les calculs biliaires présentant des symptômes ou des complications sont définis comme une maladie biliaire [Lammert F et al., 2016].

Dans le monde occidental, environ 70 % des porteurs de calculs biliaires présentent des calculs de vésicule biliaire au cholestérol (teneur en cholestérol > 50 %), et 30 % présentent des calculs de vésicule biliaire au pigment noir [Venneman N. G et al., 2010]. Le type le plus commun des calculs biliaires c'est les calculs mixtes avec 67,5% suivi par les calculs pigmentaires noirs et pigmentaires bruns qui représentent respectivement 23,83% et 5,89% [Lachgar M et al., 2011 ; Mazlum M et al., 2011].

Le traitement de la lithiase intrahépatique symptomatique doit reposer sur une approche multidisciplinaire, médicale, endoscopique, radiologique et chirurgicale.

3.2 Définition

Différents termes médicaux concernant la lithiase biliaire et ses complications sont souvent utilisés de façon inappropriée dans le langage médical courant et dans les comptes rendus d'imagerie. La lithiase biliaire est définie par la présence d'un ou plusieurs calculs dans les voies biliaires. Les calculs peuvent siéger dans la vésicule biliaire, la voie biliaire principale (VBP) ou les voies biliaires intrahépatiques [Payen J. L et al., 2011].

La Lithiase biliaire est une complication chronique très fréquente de la drépanocytose [Kâ O et al., 2010]. La maladie du calcul biliaire peut être asymptomatique ou associée à des symptômes chroniques ou aigus [Zhang D et al., 2013].

L'insuffisance biliaire peut être de trois types principaux : une insuffisance de transformation de la bile hépatique (cholestérol) en bile utile à la digestion, une insuffisance d'excrétion biliaire par absence de fluidité de la bile ou par insuffisance de motilité de la vésicule biliaire [Goetz P., 2011]. La dilatation kystique des voies biliaires (plus connue sous le terme de dilatation kystique du cholédoque) est une malformation rare [Khmekhem R et al., 2012]. La voie biliaire est perméable et permet l'écoulement de la bile dans le tube digestif. Par suite de la rotation du duodénum, l'abouchement du canal cholédoque passe progressivement de sa position antérieure initiale en position postérieure et son trajet croise ainsi le duodénum par l'arrière [Matar M et al., 2014].

La cholécystite aiguë lithiasique (CAL) correspond à une inflammation de la paroi de la vésicule biliaire due à une obstruction prolongée du canal cystique par un calcul [Fuks D et al., 2013]. Historiquement dans la littérature, la cholécystite aiguë de réanimation est décrite comme alithiasique [Degroote T et al., 2019]. Bien qu'il s'agisse, comme souvent sur le sujet, de travaux rétrospectifs et de faibles effectifs, plusieurs études récentes laissent à penser que la pathologie lithiasique représente finalement jusqu'à 50 % des cholécystites acquises en réanimation [Kim S. J et al., 2019 ; Rezende-Neto J. B et al., 2013]. Le diagnostic de la cholécystite aiguë lithiasique repose sur 3 types de signes : cliniques, biologiques et radiologiques [Payen, J. L et al., 2011].

3.3 Epidémiologie, prévalence et facteurs de risque de la lithiase biliaire

La lithiase biliaire est une maladie touchant de 15 à 20 % de la population en Europe et en Amérique du Nord, et de 25-50 % en Algérie [Amoura N. B et al., 2018]. La maladie des calculs biliaires est l'un des problèmes médicaux les plus courants, avec une prévalence de 10 à 20 % chez les adultes [Lai Fan L et al., 2017 ; Liu J et al., 2014]. Avec une prévalence globale de 10 à 20 %, la maladie du calcul biliaire représente l'un des problèmes de santé les plus fréquents et les plus importants sur le plan économique dans les pays industrialisés [Olaiya M. T et al., 2013 ; Reshetnyak V. I., 2012].

La prévalence et l'incidence de la lithiase biliaire sont très variables selon les pays. C'est une maladie prévalent dans les populations asiatiques, avec une incidence de 5 % et dans la population amérindienne, cette incidence atteint 30 à 70 % [Dureja N et al., 2019].

Les calculs biliaires sont formés chez environ 10 à 20 % chez les adultes des pays développés [Li X et al., 2017]. Les Occidentaux ont tendance à avoir une prévalence plus élevée que les Asiatiques : 16,6% et 8,6% chez les femmes et les hommes blancs non hispaniques aux États-Unis ; 14,6%-18,4% et 6,7%-9,5% chez les femmes et les hommes italiens ; 22,4% et 11,5% chez les femmes et les hommes britannique, mais seulement 10,7%, 6,6%, 5% et 3,2% en Chine, à Singapour, à Taïwan et au Japon, respectivement [Chen Y. C et al., 2014].

D'un point de vue clinique, plusieurs facteurs favorisant la lithiase vésiculaire de cholestérol ont été identifiés [Portincasa P et al., 2017 ; Portincasa P et al., 2006]. Les facteurs les plus importants sont l'âge (la lithiase est exceptionnelle avant 20 ans et sa prévalence culmine vers 70 ans), le genre (grossoirement, la lithiase est deux fois plus fréquente chez la femme que chez l'homme à âge comparable) et un antécédent familial au premier degré [Payen J. L et al., 2011].

La nutrition parentérale augmente le risque de cholélithiase, avec un risque potentiel de complications biliaires [Di Ciaula A et al., 2019 Nasri T et al., 2018 ; Stokes C. S et al., 2011 ; Appleton N. D et al., 2019]. La maladie du calcul biliaire du cholestérol résulte d'une interaction complexe de facteurs de risque génétiques et environnementaux. Les découvertes reliant la transcription des gènes, la fonction des protéines, le métabolisme des lipides et la régulation de la sécrétion des lipides biliaires dans la formation des calculs biliaires de cholestérol nous incitent à revoir notre compréhension de la maladie [Portincasa P et al., 2006].

Le mode de vie est impliqué dans la pathogenèse des calculs de cholestérol agissant sur un ou plusieurs facteurs du syndrome métabolique, à savoir l'obésité et le diabète sucré [Shabanzadeh D. M et al., 2016 ; Chen L. Y et al., 2012 ; Krawczyk M et al., 2011]. L'obésité prédispose à la formation de calculs biliaires et augmente le risque de cholécystectomie en augmentant le risque de calculs biliaires symptomatiques [Acalovschi G. E et al., 2016]. L'augmentation de l'indice de masse corporelle (IMC) est un facteur de risque définitif pour la croissance des calculs biliaires [Stinton L. M et al., 2010], et l'augmentation de l'IMC en soi est également un facteur de risque causé pour les calculs biliaires symptomatiques, en particulier chez les femmes [Stender, S et al., 2013].

D'autres facteurs associés à l'obésité qui facilitent la formation de calculs de cholestérol comprennent la stase biliaire [Csendes A et al., 2019 ; Su P. Y et al., 2019], la dyslipidémie (diminution des lipoprotéines de haute densité [Banim P. J et al., 2011]), la sédentarité [Shabanzadeh D. M et al., 2017], l'hormonothérapie substitutive et la consommation de repas-minute [Stender, S et al., 2013].

Les études de cohorte prospectives [Banim P. J et al., 2011 ; Aune, D et al., 2016] contrairement aux études cas-témoins [Zhang Y. P et al., 2017 ; Kan H. P et al., 2015 ; Xu Q et al., 2012] et aux études transversales [Portincasa P et al., 2016 ; Aune D et al., 2015] sont très utiles pour évaluer les lipides sériques et leur association avec le calcul biliaire et l'obésité.

Les facteurs de risque des calculs biliaires sont bien connus, mais ils n'ont pas été mis à jour pour tenir compte du développement d'une meilleure technologie des ultrasons et de l'avènement de la chirurgie laparoscopie. D'autre part, tout médicament à base d'œstrogènes avant ou après la ménopause augmente le risque de lithiase biliaire. On a également constaté que la parité et l'allaitement maternel sont associés à la lithiase biliaire [Vikrant G et al., 2019].

3.4 Différentes types de cholécystite

La définition des cholécystites comme une inflammation de la vésicule biliaire implique un état pathologique. L'inflammation de la vésicule biliaire sans calculs biliaires se produit généralement chez les patients gravement malades et est donc associée à un taux de mortalité élevé [Gurusamy K. S et al., 2014 ; Yacoub W. N et al., 2010].

3.4.1 Cholécystite aiguë

La cholécystite aiguë lithiasique (CAL) a comme point de départ une obstruction du canal cystique responsable d'une stase biliaire qui va initier une cascade de phénomènes inflammatoires, ischémiques puis nécrotiques de la paroi vésiculaire responsables d'une translocation et d'une prolifération bactérienne à partir du tube digestif [Regimbeau J. M et al., 2014 ; Fuks D et al., 2013].

La cholécystite aiguë est la plus fréquente des complications de la lithiase biliaire, survenant chez environ 10 % des patients ayant des calculs symptomatiques [Portincasa P et al., 2012]. Une inflammation aiguë de la paroi vésiculaire est habituellement liée à une obstruction du canal cystique par un calcul [Tazuma S et al., 2017]. Cependant, les patients atteints de cholécystite aiguë constituent un groupe très hétérogène, et les recherches antérieures n'apportent pas de connaissances convaincantes sur la manière dont la gravité de la cholécystite influence le risque de complications graves [Törnqvist B et al., 2016].

3.4.2 Cholécystite chronique

La cholécystite chronique est une inflammation de longue date de la vésicule biliaire, presque toujours due à une lithiase biliaire, elle survient lorsqu'un patient développe des cas répétés d'inflammation de la vésicule biliaire, entraînant une cicatrisation progressive et un dysfonctionnement de la vésicule biliaire. Histologiquement, la cholécystite chronique peut être caractérisée par une augmentation de la fibrose sous-épithéliale, ainsi que par une infiltration de cellules mononucléaires secondaire à cette inflammation chronique [Knab L. M et al., 2014].

Les mécanismes qui conduisent à la cholécystite chronique ne sont pas réglés. La cholécystite chronique est associée aux calculs biliaires. Cependant, il n'y a pas de relation entre le nombre de calculs biliaires et la gravité de l'inflammation. L'examen macroscopique révèle une variation de la taille de la vésicule biliaire et une variation de l'épaisseur de la paroi [Liczko J et al., 2014].

3.5 Classification, composition et structure des calculs biliaires

3.5.1 Classification des calculs biliaires et implications cliniques et épidémiologiques

Les calculs biliaires ne doivent plus être considérés comme une entité unique, mais comme une maladie hétérogène, qui comprend au moins trois sous-groupes différents : les calculs de cholestérol, les calculs mixtes dont le cholestérol est le composant principal (pour lesquels la sursaturation de la bile en cholestérol peut être importante) et les calculs pigmentaires, qui se distinguent comme pigment noir ou brun [Weerakoon H et al., 2015].

Dans les études épidémiologiques, le type de méthode de détection utilisé a une grande influence sur la prévalence rapportée des différents types de calculs biliaires. En effet, les études basées sur les ultrasons ne peuvent détecter que la simple présence ou l'absence de calculs biliaires, sans distinction entre les calculs de cholestérol, mixtes, pigmentaires ou composites. Les séries chirurgicales sont les seules qui permettent une classification précise des calculs biliaires. Cependant, les séries chirurgicales sont affectées par un biais de sélection pour les études de population car elles incluent principalement les patients dont les calculs donnent lieu à des symptômes graves ; ces symptômes se produisent rarement dans la vésicule biliaire, mais lorsqu'ils se produisent, c'est normalement chez les patients de plus de 70 ans atteints de stase biliaire [Borzellino G et al., 2008].

La classification des calculs biliaires en fonction de leur composition est essentielle pour comprendre l'étiologie, les mécanismes de formation des calculs, leur pathophysiologie, et peut contribuer à améliorer le traitement et la prévention des maladies des calculs [Alok S et al., 2013 ; Yoo E. H et al., 2008]. L'approche traditionnelle de l'analyse des calculs biliaires comprend l'inspection visuelle, l'analyse chimique et l'analyse physique. L'inspection visuelle est effectuée pour déterminer la couleur de la surface, la consistance et l'aspect en coupe transversale. Cependant, la classification des calculs biliaires sur la base de leur seule apparence est associée à des problèmes d'analyse subjective et à des divergences entre les constatations morphologiques et la composition des calculs dans certains cas [Yoo E. H et al., 2008]. Pour améliorer l'analyse des calculs biliaires, une approche chimique peut être utilisée; cependant, elle est très laborieuse et peu sensible, ce qui conduit à une sous-estimation du cholestérol et des résidus insolubles [Premprapha D et al., 2020 ; Suvorova E. I et al., 2017]. Une autre méthode d'analyse est la diffraction des rayons X introduite par Almarshad [Almarshad H. A et al., 2018]; toutefois, cette approche ne permet pas d'analyser les calculs biliaires non cristallins.

En outre, la spectroscopie infrarouge a été utilisée pour mesurer la longueur d'onde de l'énergie électromagnétique absorbée par la vibration des atomes, des ions ou des molécules. L'analyse physique par spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier (FT-IR) nécessite un volume d'échantillon minimal, présente une sensibilité et une spécificité uniformes de tous les composants évalués et peut fournir des résultats quantitatifs avec une plus grande reproductibilité [Yoo E. H et al., 2008].

3.5.2 Composition des calculs biliaires

Les différents types de calculs biliaires sont généralement divisés en calculs de cholestérol et en calculs pigmentaires selon leur morphologie ou leur composition principale [Yoo E. H et al., 2008]. Les composants principaux des calculs biliaires sont le cholestérol (présent dans 95 % des cas), la bilirubine (30 %), les sels de calcium (10 %) et plus rarement des polysaccharides. Les calculs biliaires peuvent être cholestériques, pigmentaires ou mixtes. Les calculs de cholestérol et mixtes représentent 80 % des calculs [Biliaires C. D. C., 2008]. Les calculs biliaires de cholestérol et les calculs pigmentaires sont tous les deux issus d'interactions complexes d'anomalies génétiques, environnementales et métaboliques [Portincasa P et al., 2006].

3.5.2.1 Les calculs de cholestérol

Le cholestérol est acquis par absorption intestinale alimentaire et par la synthèse endogène hépatique. Dans le foie, le cholestérol est redistribué vers la circulation générale ou vers la bile. Le cholestérol est insoluble dans l'eau et ne peut être éliminé dans la bile que sous une forme micellaire avec des acides biliaires et des phospholipides. La cristallisation du cholestérol se fait en présence de facteurs de nucléation, dont le plus fréquent est la mucine, produite par la paroi vésiculaire [Biliaires C. D. C., 2008].

Une classification précise des calculs biliaires basée sur le type de calcul, plutôt que sur la quantité totale de cholestérol qui peut aboutir à une classification non-homogène, est d'une importance capitale pour les études cliniques et épidémiologiques [Borzellino G et al., 2008].

La lithiase de cholestérol représente 80 à 90 % des calculs biliaires observés dans la population occidentale. Les calculs de cholestérol sont rarement composés de cholestérol pur, mais aussi d'une matrice de glycoprotéine, d'une quantité variable de calcium et de pigments biliaires. La formation des calculs de cholestérol est la conséquence de plusieurs anomalies hépatique, vésiculaire et intestinale [Portincasa P et al., 2006].

3.5.2.2 Les calculs pigmentaires

Dans 20 % des cas, les calculs pigmentaires et divisés en calculs noirs, formés de sels organiques ou inorganiques de calcium (phosphate, palmitate, carbonate), et en calculs bruns, rares en occident, constitués de bilirubinate de calcium [Weerakoon H et al., 2015].

Les calculs pigmentaires noirs : ils se forment dans la bile stérile de la vésicule biliaire et sont principalement composés de bilirubinate de calcium [Van Erpecum K. J., 2011]. Ces calculs ont une forte teneur en sels de calcium de bilirubine non conjuguée. Ils sont le résultat d'une hémolyse chronique (thalassémie, drépanocytose, valves cardiaques prothétiques) qui sursature en bilirubine le système de conjugaison. Ils sont durs, irréguliers et radio-opaques dans 50 % des cas [Biliaires C. D. C., 2008].

Les calculs pigmentaires bruns : Ces calculs sont des concrétions très hétérogènes qui se forment essentiellement dans la voie biliaire principale à la suite d'une maladie infectieuse. Ils sont radio-clairs aux rayons X, leur couleur est généralement brune, leur taille est souvent comprise entre 1 et 3 cm. Les calculs bruns ont une structure granuleuse. Ils sont friables, leurs composants sont disposés en couches concentriques multistratifiées avec alternance de couches brunes et de couches plus claires. Ils contiennent du bilirubinate de calcium (environ 50%), du cholestérol (20%), des sels calciques d'acides gras (10%), des phosphates et parfois des carbonates de calcium, le tout associé à un réseau complexe de mucoprotéines (10-20%) [Van Erpecum K. J., 2011].

Les calculs biliaires pigmentaires peuvent être des calculs noirs, chez les patients atteints d'affections hémolytiques, ou des calculs bruns, chez les patients atteints d'infections/infestations biliaires [Acalovschi M., 2014].

3.6 Conclusion

Les calculs biliaires constituent un problème majeur de santé publique dans tous les pays développés. De nombreuses études épidémiologiques ont été réalisées dans le but d'établir les taux de prévalence et d'incidence des calculs biliaires, et de définir les facteurs de risque, susceptibles d'être prévenus. Les calculs biliaires de cholestérol constituent plus de 80% des calculs dans le monde occidental.

Références bibliographiques

- Amoura N. B., El Imene Benkirat N., Boughendjioua H., Adjailia-Farah I. Évaluation de la capacité de dissolution des calculs biliaires de *Malva sylvestris* L. Evaluation of the dissolving capacity of gallstones of *Malvasylvestris* L. Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège (2018).
- Appleton N. D., Lal S., Carlson G. L., Shaw S., Stevens P., Peristerakis I., Soop M. Cholelithiasis and related morbidity in chronic intestinal failure: a longitudinal cohort study from a national specialized centre. *Journal of Gastrointestinal Surgery* (2019) ; 23(10) : 2002-2006.
- Acalovschi G. E., van Erpecum K. J., Gurusamy K. S., Cees J., Van Laarhoven P. P. Normas de Orientação Clínica da EASL sobre a prevenção, diagnóstico e tratamento dos cálculos biliares. *Journal of Hepatology* (2016) ; 65 : 146-181.
- Aune D., Vatten L. J. Diabetes mellitus and the risk of gallbladder disease: a systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Journal of diabetes and its complications* (2016) ; 30(2) : 368-373.
- Aune D., Norat T., Vatten L. J. Body mass index, abdominal fatness and the risk of gallbladder disease. *European journal of epidemiology* (2015) ; 30(9) : 1009-1019.
- Alok S., Jain S. K., Verma A., Kumar M., Sabharwal M. Pathophysiology of kidney, gallbladder and urinary stones treatment with herbal and allopathic medicine: A review. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* (2013) ; 3(6) : 496-504.
- Almarshad H. A., Badawy S. M., Alsharari A. F. Structural characterization of gallbladder stones using energy dispersive X-ray spectroscopy and X-ray diffraction. *Combinatorial chemistry & high throughput screening* (2018) ; 21(7) : 495-500.
- Acalovschi M. Gallstones in patients with liver cirrhosis: incidence, etiology, clinical and therapeutical aspects. *World Journal of Gastroenterology WJG* (2014) ; 20(23) : 7277.
- Boualiten K. La lithiase de la vésicule biliaire chez l'enfant (Doctoral dissertation) (2019).
- Banim P. J., Luben R. N., Bulluck H., Sharp S. J., Wareham N. J., Khaw K. T., Hart A. R. The aetiology of symptomatic gallstones quantification of the effects of obesity, alcohol and serum lipids on risk. Epidemiological and biomarker data from a UK prospective cohort study (EPIC-Norfolk). *European journal of gastroenterology and hepatology* (2011) ; 23(8) : 733-740.
- Borzellino G., Cordiano C. Biliary Lithiasis: Basic Science, Current Diagnosis and Management. Springer Science and Business Media (2008).
- Biliaires C. D. C. Lithiase biliaire et complications. *La Revue du praticien* (2008) ; 58 : 333.

- Chang Y. R., Jang J. Y., Kwon W., Park J. W., Kang M. J., Ryu J. K., Kim Y. T., Yun Y. B., Kim, S. W. Changes in demographic features of gallstone disease : 30 years of surgically treated patients. *Gut and liver* (2013) ; 7(6) : 719–724.
- Chen Y. C., Chiou C., Lin M. N., Lin C. L. The prevalence and risk factors for gallstone disease in taiwanese vegetarians. *PloS one* (2014) ; 9(12) : e115145.
- Chen L. Y., Qiao Q. H., Zhang S. C., Chen Y. H., Chao G. Q., Fang L. Z. Metabolic syndrome and gallstone disease. *World journal of gastroenterology : WJG* (2012) ; 18(31) : 4215.
- Csendes A., Csendes P., Orellana O., Cuneo N., Figueroa M., Martinez G. Patients Remain at High Risk of Gallstones Development Late (10 y) After Sleeve Gastrectomy? *Surgical Laparoscopy Endoscopy and Percutaneous Techniques* (2019) ; 29(6) : 451-455.
- Djessou P. S., Mondé A. A., Tiahou G., Koffi G., Camara M. C., Djohan F., E Yapo E., Kassayou S., Peuchant E., Essiagne Sess D., Monnet D. Caractéristiques biochimiques des lithiases vésiculaires par spectrométrie infrarouge à Abidjan. In *Annales de Biologie Clinique* (2010) ; 68(1) : 39-42.
- Degroote T., Chhor V., Tran M., Philippart F., Bruel C. Cholécystite aiguë de réanimation. *Médecine Intensive Réanimation* (2019) ; 28(6) : 443-450.
- Dureja N., Singh S. P. Study of prevalence of hypothyroidism in biliary stone patients (2019).
- Di Ciaula A., Garruti G., Frühbeck G., De Angelis M., De Bari O., Wang D. Q. H., Lammert F., Portincasa, P. The role of diet in the pathogenesis of cholesterol gallstones. *Current medicinal chemistry* (2019) ; 26(19) : 3620-3638.
- Fuks D., Cossé C., Régimbeau J. M. Cholécystite aiguë lithiasique et antibiothérapie. *Journal de Chirurgie Viscérale* (2013) ; 150(1) : 4-10.
- Fuks D., Cossé C., Régimbeau J. M. Antibiotic therapy in acute calculous cholecystitis. *Journal of visceral surgery* (2013) ; 150(1) : 3-8.
- Goetz P. Insuffisance biliaire (non lithiasique). *Phytothérapie* (2011) ; 9(3) : 172-175.
- Gurusamy K. S., Davidson B. R. Gallstones. *Bmj* (2014) ; 348.
- Knab L. M., Boller A. M., Mahvi D. M. Cholecystitis. *Surgical Clinics* (2014) ; 94(2) : 455-470.
- Kâ O., Diagne I., Bâ P. A., Cissé M., Kâ I., Dieng M., Dia A., Touré C. T. Cholécystectomie prophylactique laparoscopique pour lithiase vésiculaire chez l'enfant drépanocytaire. *Le Journal de Coelio-Chirurgie* (2010) ; 76 : 51-54.
- Khmekhem R., Zitouni H., Ahmed Y. B., Jlidi S., Nouira F., Charieg A., Douira W., Ghorbel S., Bellagha I., Chaouachi B. Traitement chirurgical des dilatations kystiques de la voie biliaire chez l'enfant. Résultats d'une série de 16 observations. *Journal de pédiatrie et de puériculture* (2012) ; 25(4) : 199-205.

- Kim S. J., Lee S. J., Lee S. H., Lee J. H., Chang J. H., Ryu Y. J. Clinical characteristics of patients with newly developed acute cholecystitis after admission to the intensive care unit. *Australian Critical Care* (2019) ; 32(3) : 223-228.
- Krawczyk M., Wang D. Q. H., Portincasa P., Lammert F. Dissecting the genetic heterogeneity of gallbladder stone formation. In *Seminars in liver disease*. © Thieme Medical Publishers (2011) ; 31(02) : 157-172.
- Kan H. P., Guo W. B., Tan Y. F., Zhou J., Liu C. D., Huang Y. Q. Statin use and risk of gallstone disease: A meta-analysis. *Hepatology Research* (2015) ; 45(9) : 942-948.
- Lachgar M., Benelkhaiat R., Finech B. Aspects épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques de la lithiase biliaire au CHU Mohammed VI Marrakech. *Faculté de Médecine et de Pharmacie Marrakech* (2011).
- Lammert F., Gurusamy K., Ko, C. W., Miquel J. F., Méndez-Sánchez N., Portincasa P., Erpecum K. J. V., Laarhoven C. J. V., Wang D. Q. H. Gallstones. *Nature reviews Disease primers* (2016) ; 2(1) : 1-17.
- Lai Fan L., hui Chen B., juan Dai Z. The relation between gallstone disease and cardiovascular disease. *Scientific reports* (2017) ; 7(1) : 1-8.
- Liu J., Lin H., Zhang C., Wang L., Wu S., Zhang D., Tang F., Xue F., Liu Y. Non-alcoholic fatty liver disease associated with gallstones in females rather than males : a longitudinal cohort study in Chinese urban population. *BMC gastroenterology* (2014) ; 14(1) : 1-7.
- Li X., Guo X., Ji H., Yu G., Gao P. Gallstones in patients with chronic liver diseases. *BioMed research international* (2017) ; 2017.
- Liczko J., Stawski T., Żaba M., Kurek J., Sabat D., Wyrobiec G., Domal-Kwiatkowska D, Dudek D., Kucharzewsk M., Helewski, K. Tissue factor and tissue factor pathway inhibitor in chronically inflamed gallbladder mucosa. *BioMed research international* (2014) ; 2014.
- Mazlum M., Dilek F. H., Yener A. N., Tokyol Ç., Aktepe F., Dilek O. N. Profile of gallbladder diseases diagnosed at Afyon Kocatepe University: a retrospective study. *Turk Patoloji Derg* (2011) ; 27(1) : 23-30.
- Matar M., Ayoubi J. M., Picone O. Mise au point : pathologies de la vésicule et des voies biliaires fœtales. *Journal de gynécologie obstétrique et biologie de la reproduction* (2014) ; 43(8) : 581-586.
- Nasri T., Cherif A., Gharbi Y., Hellara I., Zili M., Neffati F., Najjar M. F. Étude clinique et biologique de 31 cas de lithiase biliaire. In *Annales de Biologie Clinique* (2018) ; 76(2) : 173-178).
- Olaiya M. T., Chiou H. Y., Jeng J. S., Lien L. M., Hsieh F. I. Significantly increased risk of cardiovascular disease among patients with gallstone disease: a population-based cohort study. *PloS one* (2013) ; 8(10) : e76448.

- Payen J. L., Muscari F., Vibert É., Ernst O., Pelletier G. Lithiase biliaire. *La Presse Médicale* (2011) ; 40(6) : 567-580.
- Payen J. L., Muscari, F. La cholécystite aiguë lithiasique, diagnostic, critères de gravité, traitement. Quand et comment chercher une lithiase de la voie biliaire principale ? Comment traiter une lithiase de la voie biliaire principale, associée ou non à une lithiase vésiculaire ? In *Post'U FMC-HGE*. Springer, Paris (2011) : (287-298).
- Portincasa P., Q-H Wang D. Effect of inhibition of intestinal cholesterol absorption on the prevention of cholesterol gallstone formation. *Medicinal Chemistry* (2017) ; 13(5) : 421-429.
- Portincasa P., Moschetta A., Palasciano G. Cholesterol gallstone disease. *The Lancet* (2006) ; 368(9531) : 230-239.
- Portincasa P., Di Ciaula A., De Bari O., Garruti G., Palmieri V. O., Wang D. H. Management of gallstones and its related complications. *Expert review of gastroenterology and hepatology* (2016) ; 10(1) : 93-112.
- Portincasa P., Di Ciaula A., Bonfrate L., Wang D. Q. Therapy of gallstone disease: What it was, what it is, what it will be. *World journal of gastrointestinal pharmacology and therapeutics* (2012) ; 3(2) : 7.
- Premprapha D., Puttawibul P., Tanthanuch M. Chemical component of gallstone in Songklanagarind Hospital determined by infrared spectrophotometry. *Songklanagarind Medical Journal* (2020) ; 24(5) : 419-423.
- Rezende-Neto J. B., Rotstein O. D. Abdominal catastrophes in the intensive care unit setting. *Critical care clinics* (2013) ; 29(4) : 1017-1044.
- Reshetnyak V. I. Concept of the pathogenesis and treatment of cholelithiasis. *World journal of hepatology* (2012) ; 4(2) : 18.
- Regimbeau J. M., Fuks D., Pautrat K., Mauvais F., Haccart V., Msika S., ... Pocard, M. Effect of postoperative antibiotic administration on postoperative infection following cholecystectomy for acute calculous cholecystitis : a randomized clinical trial. *Jama* (2014) ; 312(2) : 145-154.
- Stokes C. S., Krawczyk M., Lammert F. Gallstones: environment, lifestyle and genes. *Digestive Diseases* (2011) ; 29(2) : 191-201.
- Shabanzadeh D. M., Sørensen L. T., Jørgensen T. Determinants for gallstone formation—a new data cohort study and a systematic review with meta-analysis. *Scandinavian journal of gastroenterology* (2016) ; 51(10) : 1239-1248.
- Stinton L. M., Myers R. P., Shaffer E. A. Epidemiology of gallstones. *Gastroenterology Clinics* (2010) ; 39(2) : 157-169.

- Su P. Y., Hsu Y. C., Cheng Y. F., Kor C. T., Su W. W. Strong association between metabolically-abnormal obesity and gallstone disease in adults under 50 years. *BMC gastroenterology* (2019) ; 19(1) : 1-6.
- Shabanzadeh D. M., Sørensen L. T., Jørgensen T. Determinants for clinical events in gallstone carriers unaware of their gallstones. *Journal of gastroenterology and hepatology* (2017) ; 32(3) : 721-726.
- Suvorova E. I., Pantushev V. V., Voloshin A. E. Methods of chemical and phase composition analysis of gallstones. *Crystallography Reports* (2017) ; 62(6) : 817-830.
- Tazuma S., Unno M., Igarashi Y., Inui K., Uchiyama K., Kai M., ... Shimosegawa, T. Evidence-based clinical practice guidelines for cholelithiasis 2016. *Journal of gastroenterology* (2017); 52(3) : 276-300.
- Törnqvist B., Waage A., Zheng Z., Ye W., Nilsson M. Severity of acute cholecystitis and risk of iatrogenic bile duct injury during cholecystectomy, a population-based case-control study. *World journal of surgery* (2016) ; 40(5) : 1060-1067.
- Vikrant G., Sonika G., Shivani G. Prevalence and incidence of biliary sludge and stones during pregnancy: a hospital-based study. *Paripex-Indian Journal Of Research* (2019) ; 8(8): 1991-2250.
- Venneman N. G., Van Erpecum K. J. Pathogenesis of gallstones. *Gastroenterology Clinics* (2010) ; 39(2) : 171-183.
- Van Erpecum K. J. Pathogenesis of cholesterol and pigment gallstones: an update. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology* (2011) ; 35(4) : 281-287.
- Weerakoon H., Navaratne A., Ranasinghe S., Sivakanesan R., Galketiya K. B., Rosairo S. Chemical characterization of gallstones: an approach to explore the aetiopathogenesis of gallstone disease in Sri Lanka. *PloS one* (2015) ; 10(4) : e0121537.
- Xu Q., Tao L. Y., Wu Q., Gao F., Zhang F. L., Yuan L., He X. D. Prevalences of and risk factors for biliary stones and gallbladder polyps in a large Chinese population (2012) ; 14(6) : 373-381.
- Yacoub W. N., Petrosyan M., Sehgal I., Ma Y., Chandrasoma P., Mason R. J. Prediction of patients with acute cholecystitis requiring emergent cholecystectomy: a simple score. *Gastroenterology research and practice* (2010) ; 2010.
- Yoo E. H., Oh H. J., Lee S. Y. Gallstone analysis using Fourier transform infrared spectroscopy (FT-IR). *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (CCLM)* (2008) ; 46(3) : 376-381.
- Zhang Y. P., Zhao Y. L., Sun Y. L., Zhu R. T., Wang W. J., Li J. Physical Activity and the Risk of Gallstone Disease. *Journal of clinical gastroenterology* (2017) ; 51(9) : 857-868.
- Zhang D., Xiang J., Wang L., Xu Z., Sun L., Zhou F., Zha X., Cai D. Comparative proteomic analysis of gallbladder bile proteins related to cholesterol gallstones. *PLoS One* (2013) ; 8(1) : e54489.

Partie 2 : Matériel et méthodes

2.1 Matériel

2.1.1 Etude de la cristallurie

En l'année 2018 dans la période "février à juin", l'analyse des urines de 325 patients au service d'urologie du Centre Hospitalier Régional de Béni Mellal a été effectuée. La collecte des échantillons d'urine a concerné l'urine du réveil au matin. Environ 50 ml d'une telle urine sont pris dans un flacon stérilisé, puis stockée à une température de 4 °C au réfrigérateur. Le pH urinaire est noté in situ alors que la lecture des cristaux urinaires au Microscope Optique à Lumière Polarisée se fait au laboratoire dans un délai ne dépassant pas 2 heures.

Par ailleurs, un questionnaire a été entrepris, auprès du patient, en termes de données à traiter par le présent travail. Les données issues du questionnaire ont été complétées et ajustées moyennant les données et archives des bases de données du Centre Hospitalier Régional de Béni Mellal-Khénifra. On a déterminé les caractéristiques suivantes : "genre", "âge", "zone géographique", "qualité d'eau", "apport hydrique journalier", "antécédents personnels et familiaux", "pH urinaire", "présence de cristaux" et "profil chimique".

➤ **Analyse constitutionnelle par Microscopie Optique à Lumière Polarisée (MOLP) et par l'appareil de marque URIT1600**

Un analyseur d'urine (**Figure 16**) a été utilisé pour la mesure du pH urinaire (pH_{ur}) et l'observation de la cristallurie. Cette dernière a été également observée par MOLP (**Figure 17**), dont la technologie repose sur l'utilisation d'un faisceau de lumière polarisée (des ondes vibrant dans un seul plan). Pour assurer cette polarisation, un polarisateur est placé après la source de lumière, avant l'échantillon.



Figure 16 : Analyseur d'urine (URIT1600).



Figure 17 : Microscope Optique à Lumière Polarisée Olympus CX23.

La cristallurie est considérée positive lorsque la grille de la cellule de Malassez (**Figure 18**) contient au moins un cristal de l'espèce chimique concernée. Les cristaux urinaires ont été identifiés grâce à leurs caractéristiques morphologiques, comportements de la lumière polarisée et le pH des urines les contenant.



Figure 18: Grille de la cellule de Malassez

2.1.2 Etude de la lithiase urinaire

La présente étude a concerné 208 patients lithiasiques (136 hommes et 72 femmes), hospitalisés au Centre de l'Hôpital Régional de Béni Mellal, et ce le long de l'année 2019. Une fiche d'identification a été remplie contenant des informations sur le patient : “nom” ; “âge” ; “genre” ; “qualité de l'eau” et “l'origine géographique”. L'étude s'est basée sur des informations des patients, une épidémiologie statistique et une analyse comparative des deux genres.

2.1.3 Etude de la lithiase biliaire

Cette étude a concerné 226 patients lithiasiques de la région de Béni Mellal-Khénifra dont 198 femmes et 28 hommes. Les calculs biliaires ont été collectés, pendant l'année 2018, dans le service de chirurgie du Centre Hospitalier Régional de Béni Mellal.

Au total, 20 calculs biliaires ont été utilisés comme matériel d'investigation. Les échantillons des calculs prélevés ont été nettoyés à l'aide de l'alcool à brûler pour éliminer les caillots de sang, lavés à fond à l'eau distillée, puis séchés à température ambiante. Les échantillons secs ont été stockés dans des bouteilles en verre pré-nettoyés pour analyse ultérieure. Les échantillons ont été étiquetés comme étant des calculs biliaires mixtes et des calculs biliaires de cholestérol pur. En outre, une étude microscopique a été réalisée sur les vésicules biliaires issues de la chirurgie, afin de procéder à des prélèvements sélectifs pour l'analyse constitutionnelle.

Tous les échantillons ont été broyés pour obtenir un mélange homogène à analyser. Les échantillons ont été analysés sur la base de leurs caractéristiques structurales et chimiques. La composition de l'élément a été déterminée à l'aide d'une analyse par Microscope Electronique à Balayage (MEB) (au Centre d'Analyse de la FST-BM au Maroc), analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF) (au Centre d'Analyse de la FSS-Marrakech au Maroc) et analyse par Diffraction des Rayons X (au Centre d'Analyse de FST-BM et FST-Meknes). Ces méthodes nous ont été complémentaires pour la classification qualitative et quantitative des calculs biliaires.

La connaissance des facteurs clés impliqués dans l'étiopathogenèse de la maladie du calcul biliaire nécessite un traitement chimique, l'analyse de la structure et de la composition élémentaire.

L'application de techniques analytiques complémentaires, telles que le MEB, la spectroscopie (TFIR) et la diffraction des rayons X (DRX), devrait contribuer à une meilleure compréhension du mécanisme de formation des calculs de la vésicule biliaire. Même si les données MEB, TFIR et DRX ont été collectées sur 20 calculs biliaires, seuls les spectres représentatifs de 6 échantillons sont présentés dans ce travail.

L'analyse des calculs est une étape importante de la prise en charge de la maladie lithiasique, c'est la composition des calculs qui informe sur les désordres métaboliques, le calcul lui-même ne représentant qu'un symptôme.

2.1.3.1 Analyse constitutionnelle des calculs biliaires par Microscopie Electronique à Balayage (MEB)

La morphologie et la distribution spatiale des phases constitutives de chaque calcul biliaire, ont été étudiées à l'aide d'un Microscope Electronique à Balayage à émission de champ fonctionnant à une tension d'accélération de 20 kV. Les échantillons de calculs biliaires ont été montés sur des talons en aluminium à l'aide d'un ruban de carbone et pulvérisés par une mince couche d'or pour les rendre conducteurs et prêts à être bien investis par MEB.

➤ Appareillage

La Microscopie Electronique à Balayage (MEB) a été utilisé pour l'analyse constitutionnelle des calculs. Les analyses ont été effectuées au centre d'analyse de la faculté des Sciences et Techniques de Béni Mellal-Maroc. Les échantillons ont été analysés séquentiellement par le MEB, model JEOL JSM-5500 (**Figure 19**).



Figure 19 : Microscope Electronique à Balayage, model JEOL JSM-5500.

➤ Principe

Une portion de chacune des différentes zones est choisie selon la texture et la couleur ou une autre particularité présente afin d'obtenir une information complète sur le calcul. Les échantillons, couverts d'une couche du carbone graphite afin d'éviter l'accumulation de charges à la surface, sont fixés sur une feuille d'aluminium du détecteur utilisant la bande du carbone comme conducteur. Les signaux du détecteur sont envoyés sur un écran qui permet d'obtenir les informations de la surface balayée par les électrons incidents, une image en 3D alors obtenue. Les cristaux constitutifs du calcul sont comparés à des images de références [Iwamuro M et al., 2019 ; Sharma R et al., 2015].

2.1.3.2 Analyse constitutionnelle par Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF)

Les mesures ont été effectuées à l'aide de l'instrument TFIR dans la gamme des fréquences moyennes ($4000-500\text{ cm}^{-1}$) avec une résolution de 4 cm^{-1} . La spectroscopie TFIR a permis une meilleure compréhension des molécules individuelles dans les calculs biliaires.

➤ Appareillage

La spectrophotométrie infrarouge a été utilisée pour l'analyse qualitative et quantitative des constituants des calculs biliaires. Les analyses ont été effectuées au laboratoire de la faculté des Sciences et Techniques de Marrakech-Maroc. Les échantillons ont été analysés par spectroscopie infrarouge, model Jasco TFIR – 4100 (**Figure 20**).

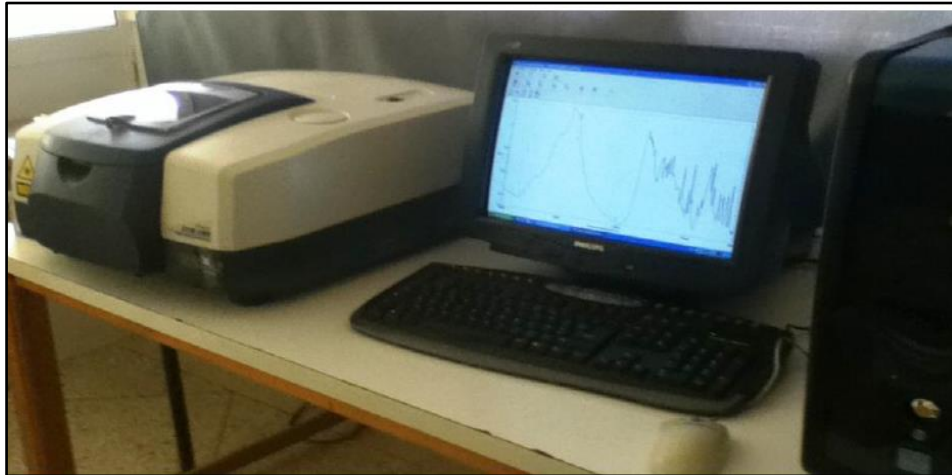


Figure 20 : Appareil d'analyse spectrophotométrie infrarouge, model Jasco TFIR – 4100

➤ Principe

La spectrophotométrie infrarouge est une technique d'analyse physicochimique utilisant un faisceau infrarouge qui provoque une vibration spécifique de chacune des molécules qui lui est exposée. Au moyen d'un traitement algorithmique (transformée de Fourier), ces vibrations se traduisent par la construction d'un spectre dont les bandes d'absorption correspondent à la présence spécifique d'une ou de plusieurs molécules.

2.1.3.3 Analyse constitutionnelle par Diffraction des Rayons X (DRX)

Le diagramme DRX a été mesuré en mode de balayage continu sur le système de diffractomètre PANalytical (X'Pert HighScore) en utilisant un tube en cuivre. Le diagramme de diffraction de l'échantillon de calcul biliaire a été comparé aux diagrammes standard du JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards). Les intensités de diffraction ont été enregistrées de 5° à 25°.

➤ Appareillage

L'analyse structurale des échantillons de cholestérol, de pigments et des calculs biliaires mixtes, par la technique de diffraction des rayons X sur poudre, a été effectuée pour trouver les constituants chimiques réels et pour confirmer la phase cristalline des calculs biliaires. Les échantillons des calculs biliaires ont été broyés en poudre fine pour les mesures de diffraction des rayons X sur poudre.

Les analyses ont été effectuées au centre d'analyse de la Faculté des Sciences et Techniques de Béni Mellal, et de la Faculté des Sciences et Techniques de Meknes.



Figure 21 : Appareil d'analyse Diffraction de Rayons X.

➤ Principe

La Diffraction de Rayons X (DRX) sur poudre est une technique communément utilisée pour l'identification de phases cristallines dans un matériau. Les raies de diffraction du composé, propres à chaque structure cristalline, indiquent la nature des phases dans le composé.

Le diffractomètre utilisé est un Bruker 8D Focus avec un tube de rayons X à anticathode de cuivre $\lambda_{K\alpha 1} = 1,5406 \text{ \AA}$ et $\lambda_{K\alpha 2} = 1,5445 \text{ \AA}$. La géométrie est de type Bragg-Brentano, et un montage θ - 2θ est utilisé : dans cette configuration, le faisceau incident fait un angle θ avec la surface de l'échantillon et le détecteur est en position 2θ par rapport au faisceau incident [Bibienne T., 2015].

2.2 Méthode

Une classification par la méthode de l'Analyse en Composantes Principales (ACP) a été appliquée aux données collectées grâce au questionnaire et archives auprès du Centre Hospitalier Régional de Béni Mellal-Khénifra.

L'analyse en composantes principales (ACP ou PCA en anglais) est la méthode de classification la plus courante. Elle est non supervisée, c'est-à-dire sans phase d'apprentissage et elle vise simplement à décrire les données d'entrée, à savoir la matrice X discutée ci-avant de dimension (N, K) où N est le nombre de mesures et K le nombre de variables considérées. Cette technique exploratoire permet de constater si les échantillons forment des groupes distincts, si un échantillon est anormalement éloigné des autres et peut donc être considéré comme aberrant.

L'ACP est entièrement basée sur le calcul de la matrice des covariances qui s'écrit simplement comme le produit de la matrice X des variables d'entrée par sa matrice transposée X^T . La matrice de covariances de X est donc une matrice carrée de dimension (K, K), symétrique et les valeurs situées sur la diagonale de la matrice sont les valeurs des variances de chaque variable. Enfin, le signe des termes non diagonaux informe sur la nature de la corrélation : un signe plus indique que les deux variables évoluent dans le même sens, alors qu'un signe moins indique que lorsqu'une variable croît, l'autre décroît. On calcule ensuite les valeurs propres et les vecteurs propres de cette matrice de covariances, en prenant soin de normaliser à 1 la norme des vecteurs propres. Ce calcul complet de diagonalisation de la matrice de covariance ne peut malheureusement pas être mis en oeuvre dans le cas de matrices de grandes dimensions et l'on a alors recours à un calcul itératif couramment utilisé et connu sous le nom de NIPALS, pour « Non Linear Iterative Partial Least Squares » [Wold H., 1966] et décrit ci-après :

La matrice des données initiales est sous la forme suivante :

$$X = \begin{bmatrix} x_{11} & \dots & x_{1k} \\ \vdots & \ddots & \vdots \\ x_{N1} & \dots & x_{Nk} \end{bmatrix}$$

Les x_{ij} sont les coefficients de corrélation entre les variable i et la variable j.

Notons qu'un prétraitement des données est nécessaire. Il faut en effet que les données soient centrées (la valeur moyenne est soustraite à toutes les données) ou bien centrées et réduites, ce qui revient à normaliser les données centrées par rapport à leur variance.

Dans tous les cas, elle offre une approche exploratoire très efficace qui permet de comprendre des similitudes et des corrélations et de rejeter des données aberrantes.

L'ACP est connue être une méthode, de classification de données, simple et susceptible de résoudre de telles questions d'une manière pratique. Elle est basée sur un changement des variables dépendantes (A, B...F) pour arriver à de nouvelles variables indépendantes (PC1, PC2, ...) qui sont des combinaisons linéaires des premières. Les dernières variables sont dites les composantes principales. L'ACP nous permet de déterminer, également, les correspondances entre les individus d'une part et les variables d'autre part.

Références bibliographiques

- Aassem Y. Valorisation antilithiasique de sous-produits agro-alimentaires : Cas de la caroube, le citron, le jujube et l'orange. Thèse de doctorat. Faculté des Sciences et Techniques Béni Mellal (2020).
- Bibienne T. Alliages cubiques centrés Ti-VX (X= Cr ou Mn) pour le stockage de l'hydrogène (Doctoral dissertation, Université du Québec à Trois-Rivières) (2015).
- Iwamuro M., Urata H., Hirata S., Ueki T., Hanabata T., Takeda S., Teraoka A., Okada H. A bezoar composed of bilirubin calcium, calcium carbonate, and fatty acid calcium. Case reports in gastrointestinal medicine (2019) ; 2019.
- Sharma R., Soy S., Kumar C., Sachan S. G., Sharma S. R. Analysis of gallstone composition and structure in Jharkhand region. Indian Journal of Gastroenterology (2015) ; 34(1) : 29-37.
- Wold H. Estimation of principal component and related models by iterative least squares, Journal of Multivariate Analysis (1966): 391-420.

Partie 3 : Résultats expérimentaux

Chapitre 1. Facteurs influençant la cristallurie dans la région de Béni Mellal-Khenifra au Maroc

1.1 Introduction

La cristallurie désigne la présence de cristaux dans les urines. Elle est la conséquence d'une sursaturation urinaire excessive à l'origine de complications rénales telles que lithiase, néphrocalcinose, insuffisance rénale aiguë ou chronique susceptible d'évoluer vers le stade terminal [Daudon M., 2015]. D'où l'importance de la cristallurie tant pour le diagnostic que pour juger de l'efficacité de la prise en charge thérapeutique des pathologies congénitales ou acquises responsables de la cristallisation urinaire : lithiase, insuffisance rénale obstructive par cristallisation intra tubulaire et/ou néphrocalcinose [Bouzana F., 2019 ; Ammari S., 2015].

Toutefois, une meilleure connaissance des étapes du processus de cristallisation et une bonne définition des moyens thérapeutiques susceptibles de réduire la formation des cristaux dans l'urine permettent une prévention efficace afin d'éviter le risque de récurrence auquel le praticien et le patient sont confrontés. Parmi les moyens thérapeutiques préventifs, on trouve le recours aux inhibiteurs de cristallisation [Djaroud S et al., 2013 et Sekkoum K et al., 2011]. Pour toutes ces raisons, l'étude de la cristallurie est d'un grand intérêt clinique. Cependant, en raison de la sursaturation naturelle des urines, il convient de respecter un certain nombre de critères pré-analytiques pour garantir la pertinence des résultats de l'analyse [Daudon M., 2013].

L'objectif du présent travail est d'approcher aussi bien d'éventuelles ressemblances entre des patients que des corrélations entre facteurs qui puissent influencer la fréquence de la cristallurie chez ces patients. La zone géographique, siège de la présente étude en termes de provenance géographique des patients, est la région de Béni Mellal-Khénifra située entre le centre et le nord du Maroc. Les échantillons de cristallurie ont été collectés auprès de patients au Centre Hospitalier Régional de cette région.

Le profil chimique des cristalluries a été déterminé par moyen de microscopie à lumière polarisée et la recherche d'éventuelles corrélations entre différents facteurs étudiés a été réalisée en utilisant la méthode d'Analyse en Composantes Principales.

1.2 Résultats et discussion

1.2.1 Répartition des patients selon le genre et l'âge

Dans cette série de 148 patients d'âge moyen de 47 ans, de cristallurie positive, il a été noté que les femmes représentaient une proportion plus élevée que les hommes (86 femmes soit 58,1 %, contre 62 hommes soit 41,9 %) (**Figure 22**) (le ratio homme / femme était de 0,7). Ce rapport était encore diminué chez les sujets d'âge inférieur à 40 ans (H/F= 0,6) et les sujets d'âge entre 40 et 59 ans (H/F = 0,4). La prédominance masculine était évidente lorsque l'âge est supérieur à 60 ans, avec un rapport homme/femme (H/F) global de 1,2 (**Figure 22**). Ce résultat montre que la cristallurie touche tous les groupes d'âge, quel que soit le genre.

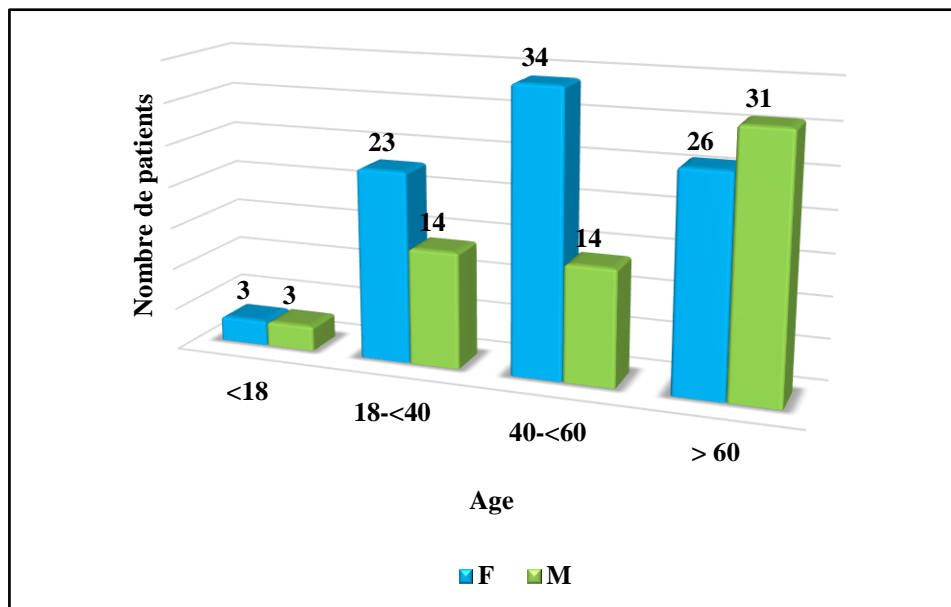


Figure 22 : Répartition des patients selon l'âge et le genre (F : féminin ; M : masculin).

L'analyse de ces cristalluries d'une série de patients du moyen Atlas marocain montre une nette prédominance féminine avec un rapport H/F de 0,7. Cette prédominance féminine a déjà été soulignée par Kheyra Sbahi [Sbahi K et al., 2015]. Cependant, ce résultat n'est pas concordant avec ceux de plusieurs travaux antérieurs [Bouzana F., 2019 ; El Jery H. K et al., 2016], qui montrent que la cristallurie touchent les hommes plus que les femmes. Ceci peut s'expliquer par le fait que le choix des patients dans notre série de travail était purement arbitraire et dans une période, également, arbitraire.

La population d'étude est constituée de 148 patients, d'un âge moyen de 47 ans, ayant une cristallurie positive. Ce qui rejoint les résultats obtenus dans la série de M. Mbarki [Mbarki et al., 2005]. Par ailleurs, il est remarqué que la cristallurie est plus souvent rencontrée à un âge avancé, chez les femmes et chez les hommes, ceci peut s'expliquer par la baisse de la fonction rénale en fonction de l'âge du patient.

1.2.2 Répartition des patients selon l'origine géographique et la qualité de l'eau

Nous avons identifié la provenance géographique des 148 patients de la région Béni Mellal-Khénifra : 33 % proviennent du milieu urbain (U) et 67 % du milieu rural (R) (**Figure 23**). Nous avons identifié la qualité de l'eau consommée chez 148 patients siège du présent travail. Le constat général qui se dégage est que, 34 % utilisent l'eau traitée (ET) alors que 66 % utilisent l'eau non traitée (ENT) (**Figure 23**).

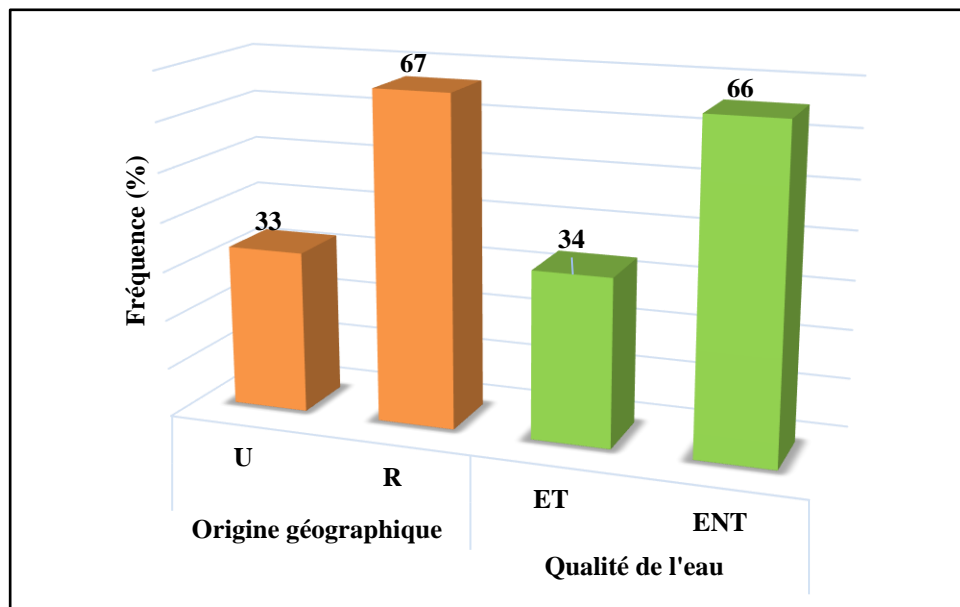


Figure 23: Répartition des patients selon l'origine géographique (U : urbain ; R : rural) et la qualité de l'eau (ET : eau traitée ; ENT : eau non traitée).

Un aspect très peu étudié est la variation de la composition des urines en fonction de zones géographiques au sein d'une même région. Nos résultats montrent une fréquence plus élevée chez les patients provenant du milieu rural. Ce résultat peut être lié au fait que la région siège du présent travail est une région à vocation agricole. D'où une tendance de spécificité rurale de la population.

Les eaux de boissons diffèrent en fonction de leurs caractéristiques, de la température, du débit et de l'origine hydrogéologique de l'eau. En plus, en termes de composants minéraux, la plupart des zones de la région de Béni Mellal-Khénifra, manque de station de traitement de l'eau potable. Les résultats de la présente étude montrent une fréquence plus élevée chez les patients consommant l'eau non traitée (ENT). Ce résultat est attendu puisqu'il est concordant avec celui concernant l'origine géographique. On remarque qu'il y a une forte corrélation entre l'origine géographique du patient et la qualité de l'eau consommée. En fait, les stations des eaux traitées sont plus fréquentes en milieu urbain qu'en milieu rural.

1.2.3 Répartition des patients selon l'apport hydrique journalier (Litre /Jour)

Les résultats montrent que la plupart des patients consomment une quantité d'eau ne dépassant pas 1,5 L/jour (**Figure 24**).

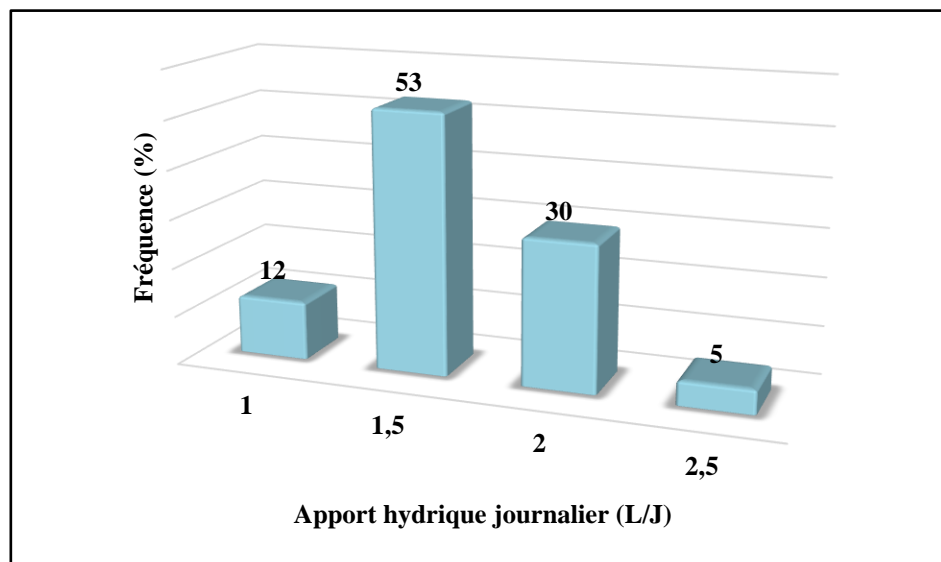


Figure 24 : Répartition des patients selon l'apport hydrique journalier (L /J).

Le patient doit veiller à augmenter la ration journalière afin qu'elle soit de l'ordre de 2,5 à 3 L et ce pour assurer un débit urinaire dépassant 2L par jour [Tack I et al., 2016]. On peut aussi remarquer que même les individus consommant 2,5 L/J présentent une cristallurie positive. Ceci peut être expliqué par le fait que la cristallurie dépend d'autres paramètres tels que la qualité d'eau consommée et les mauvaises habitudes alimentaires. Il est à signaler que presque la totalité des patients présente un apport hydrique inférieur à la norme, d'où un facteur favorisant la présence de cristallurie.

L'état d'hydratation a plusieurs impacts sur l'appareil urinaire. Une hydratation insuffisante, responsable d'un volume d'urine réduit, majore le risque d'infection urinaire chez la femme et le risque de calculs rénaux chez l'ensemble de la population [Tack I et al., 2016 ; Lotan Y et al., 2013]. Bien que nos besoins en eau et sa distribution dans le corps changent avec l'âge, le contrôle homéostatique de l'équilibre des fluides corporels à un âge donné reste un processus étroitement contrôlé dans lequel les reins jouent un rôle important [Lotan Y et al., 2013 ; Tian Y et al., 2016]. On tend, généralement, à recommander de boire plus d'eau, mais la justification de cette affirmation reste floue, comme le montre notre étude, et il n'existe actuellement aucune recommandation pour un apport en liquide sain étayée par des preuves scientifiques rigoureuses. Le même manque de preuves empêche d'affirmer qu'un apport élevé en liquide ne présente aucun avantage clinique.

1.2.4 Répartition des patients selon la maladie du diabète et de l'hypertension artérielle

Le présent travail a concerné une population de diabétiques et de patients présentant des hypertensions artérielles. Parmi les 148 patients (de cristallurie positive), 30 % sont diabétiques (D) et 16 % présentent l'hypertension artérielle (HA) (**Figure 25**).

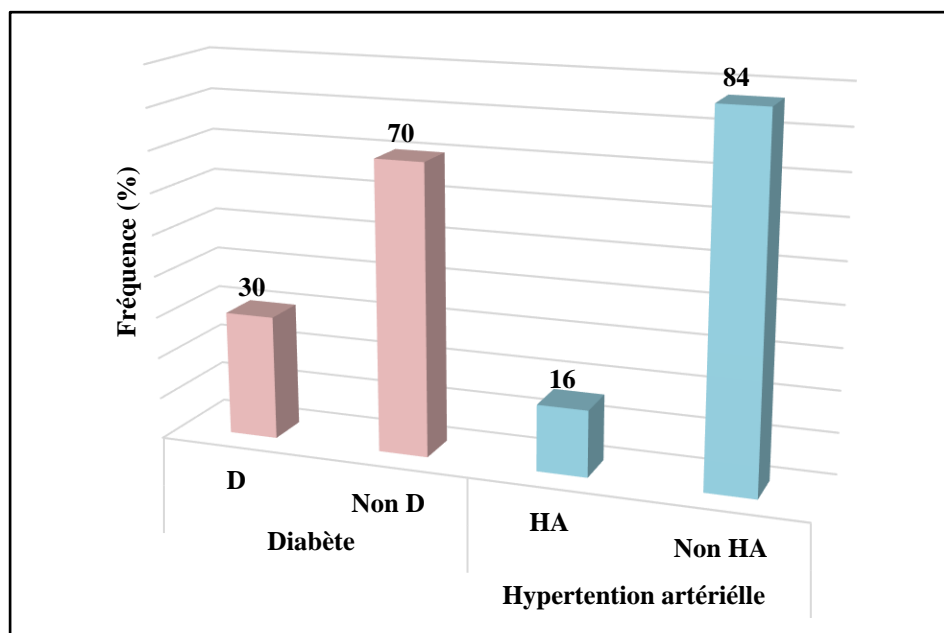


Figure 25 : Répartition des patients selon la maladie du diabète (D) et d'hypertension artérielle (HA).

Le diabète, en particulier dans sa forme non insulino-dépendante, est une pathologie en pleine expansion dans les pays industrialisés et dans les pays émergents.

La fréquence de la cristallurie chez la population diabétique a été évaluée récemment à 21 %, soit plus du double de la fréquence de la cristallurie chez la population générale [Mbarki et al., 2005]. Une corrélation significative entre la pression artérielle et l'excrétion de calcium a été révélée par de nombreux chercheurs, en particulier chez les patients âgés, lorsque l'hypertension est associée à un poids corporel excessif [Cipu D. S et al., 2019]. Dans ce contexte, il est à signaler que peu d'études ont été réalisées sur la corrélation entre la cristallurie et l'hypertension artérielle. Il est important de signaler que le présent travail montre qu'il n'y a pas de liaison entre cristallurie et hypertension artérielle. Par ailleurs, les résultats obtenus montrent que la population des 24 patients présentant l'hypertension artérielle, sont constitués en majorité par des hommes : ceux-ci représentaient 71 % de l'effectif total (**Figure 26**) (le ratio homme/femme était de 2,4).

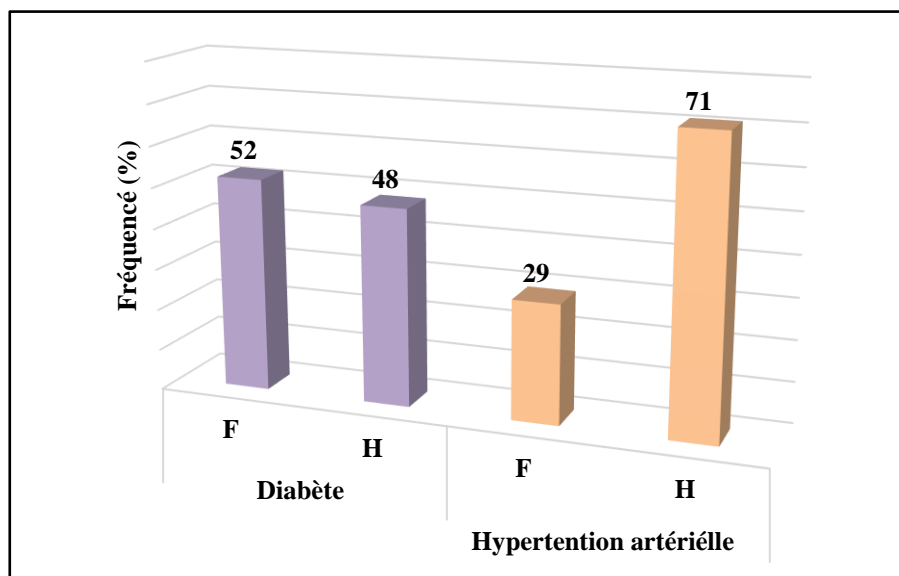


Figure 26 : Répartition des patients du diabète et d'hypertension artérielle selon le genre.

Du point de vue genre, les résultats obtenus montrent que la population des 44 diabétiques était constituée en moitié par des femmes : celles-ci représentaient 52 % de l'effectif total (le ratio femme/homme était de 1,1) (**Figure 26**). Ceci est en accord avec l'étude d'Oulad Sayad N [Sayad N. O., 2009], qui a montré que, globalement, qu'il n'existe pas de différence notable dans la répartition des diabétiques marocains entre les deux genres. Cependant ces résultats sont en désaccord avec l'étude de Mbarki et al qui ont montré que la maladie du diabète est plus dominante chez les femmes (71,6% de femmes) [Mbarki et al., 2005].

La répartition des genres n'a pas été équitable dans notre série avec une nette prédominance masculine (71% H, 29% F). Ce résultat n'est pas tout à fait en accord avec ceux de [Mabele, G. K. et al., 2018], [Hamida F et al., 2013] et [Thomas F et al., 2012] qui ont cité une répartition des genres, globalement comme suit : (56,7% H, 43,3 % F), (51,3 % H, 49,7 % F) et (51 % H, 49 % F) respectivement.

1.2.5 Répartition des patients selon le pH urinaire (pH_{ur})

La mesure du pH urinaire a été effectuée sur 325 patients. On a fait une comparaison entre le pH_{ur} des 148 patients à cristallurie positive et celui de ceux (177 patients) à cristallurie négative. Les résultats ont montré que le pH_{ur} moyen chez les patients de cristallurie positive est de 5,5 à peu près égal à celui des patients de cristallurie négative qui est de 5,6. Cela peut être expliqué par le fait que le pH_{ur} est indépendant de la présence de la cristallurie. D'ailleurs, les déterminants du pH urinaire ne sont pas totalement connus et associent des facteurs organiques à des facteurs alimentaires.

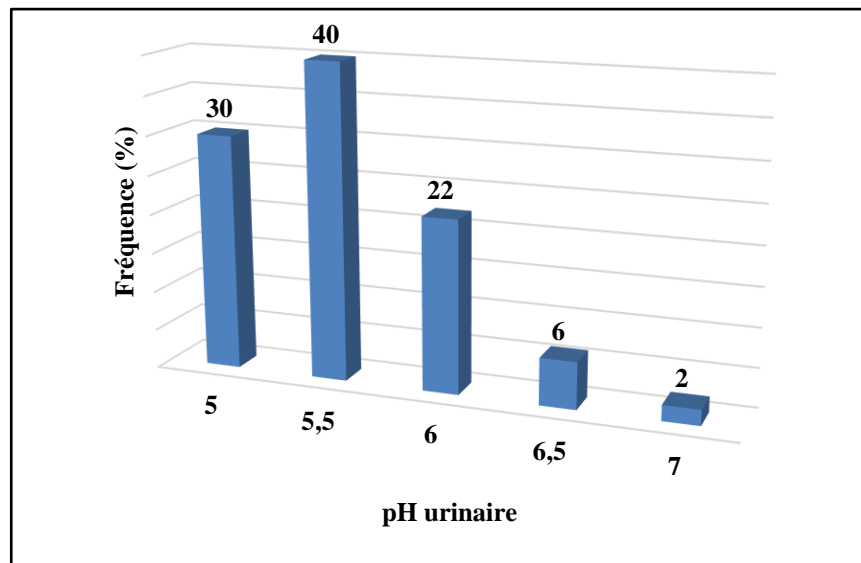


Figure 27 : Répartition des patients selon le pH urinaire (pH_{ur}).

Le présent travail montre également une fréquence plus élevée du pH de l'ordre de 5,5 (**Figure 27**). Cette valeur est proche de la valeur moyenne du pH urinaire normal ($pH=5,8$) [El Habbani R et al., 2016]. Les espèces cristallines indépendantes du pH_{ur} qui sont présentes dans les urines, sont peu nombreuses. Ce sont essentiellement les oxalates de calcium, la dihydroxyadénine, le cholestérol (rare dans les urines) et, à un moindre degré, la cystine.

En réalité, même l'oxalate de calcium et la cystine sont en partie dépendants du pH_{ur} mais sur la gamme de pH habituelle des urines, on peut considérer que leur sensibilité au pH_{ur} est faible [Daudon M., 2015 ; Ammari S., 2015].

1.2.6 Répartition des constituants majoritaires selon l'âge et le genre

Des micrographies, par Microscopie Optique à Lumière Polarisée (MOLP), des exemples de cristallurie rencontrées : oxalates de calcium (CaC_2O_4), acides uriques ($\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$) et phosphates de calcium ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$), sont représentées sur la figure 28. Toutes les espèces cristallines possèdent différents faciès dans les urines. La weddellite se présente communément sous la forme de cristaux octaédriques composés de deux pyramides aplaties accolées par la base. Ces cristaux apparaissent ainsi dans l'urine sous la forme d'enveloppes carrées (**Figure 28**).

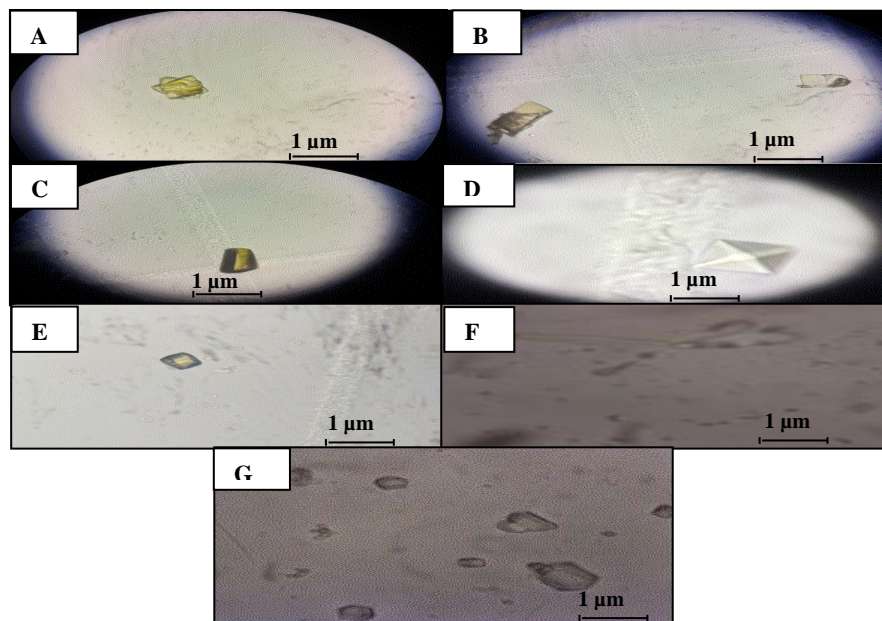


Figure 28 : Micrographies par MOLP (grossissement de 400), A : Urate amorphe complexe ; B : Acide urique monohydraté ; C : Acide urique dihydraté ; D : Oxalate de calcium dihydraté (weddellite) ; E : Oxalate de calcium monohydraté (whewellite) ; F : Phosphate d'ammonium et de magnésium (struvite) (forme d'aiguille) et Phosphate amorphe complexe carbonaté (forme de nuage sombre) ; G : Acide urique anhydre.

Les résultats de l'étude de la cristallurie ont été exprimés en termes de nombre et de fréquence (%) selon la nature de l'espèce cristalline majoritaire et ce en fonction du genre et de l'âge des patients (**Tableaux 4 et 5 suivants**).

Tableau 4 : Répartition de la fréquence du constituant majoritaire de la cristallurie, selon l'âge chez les hommes (N = 62) : Oxalate de calcium monohydraté (whewellite)(OCM) ; Oxalate de calcium dihydraté (weddelite)(OCD) ; Acide urique monohydraté (AUM) ; Acide urique dihydraté (AUD) ; Acide urique anhydre (AUAn) ; Urate amorphe complexe (UAC) ; Phosphate amorphe complexe carbonaté (PACC) et Phosphate d'ammonium et de magnésium (PAM).

Classe d'âge (ans)	Nombre (%)	Oxalates de Calcium		Acide urique et urates				Phosphates	
		OCM	OCD	AUM	AUD	AUAn	UAC	PACC	PAM
<18	11 (10,5)	3 (27,3)	3 (27,3)	1 (9,1)	2 (18,1)	1 (9,1)	1 (9,1)	-	-
18-40	24 (22,9)	9 (37,5)	4 (16,7)	1 (4,2)	5 (20,8)	2 (8,3)	1 (4,2)	2 (8,3)	-
41-60	54 (51,4)	20 (37)	15 (27,7)	1 (1,9)	11 (20,3)	1 (1,9)	4 (7,4)	1 (1,9)	1 (1,9)
> 60	16 (15,2)	7 (43,7)	2 (12,5)	-	3 (18,7)	1 (6,3)	1 (6,3)	-	2 (12,5)
Total selon le constituant	105 (100)	39 (37,1)	24 (22,8)	3 (2,9)	21 (20)	5 (4,7)	7 (6,7)	3 (2,9)	3 (2,9)
Total selon la classe chimique du constituant		63 (60)		36 (34,3)				6 (5,7)	

Tableau 5 : Répartition de la fréquence du constituant majoritaire de la cristallurie, selon l'âge chez les femmes (N = 86) : Oxalate de calcium monohydraté (whewellite)(OCM) ; Oxalate de calcium dihydraté (weddelite)(OCD) ; Acide urique monohydraté (AUM) ; Acide urique dihydraté (AUD) ; Acide urique anhydre (AUAn) ; Urate amorphe complexe (UAC) ; Phosphate amorphe complexe carbonaté (PACC) et Phosphate d'ammonium et de magnésium (PAM).

Classe d'âge (ans)	Nombre (%)	Oxalates de Calcium		Acide urique et urates				Phosphates	
		OCM	OCD	AUM	AUD	AUAn	UAC	PACC	PAM
<18	7 (6,3)	2 (28,6)	2 (28,6)	-	2 (28,6)	-	1 (14,2)	-	-
18 – 40	31 (27,7)	9 (29)	9 (29)	1 (3,2)	5 (16,2)	1 (3,2)	5 (16,2)	1 (3,2)	-
41-60	37 (33)	13 (35,1)	10 (27)	2 (5,4)	7 (19)	1 (2,7)	2 (5,4)	2 (5,4)	-
> 60	37 (33)	13 (35,1)	11 (29,7)	-	7 (19)	2 (5,4)	3 (8,1)	1 (2,7)	-
Total selon le constituant	112 (100)	37 (33)	32 (28,6)	3 (2,7)	21 (18,7)	4 (3,6)	11 (9,8)	4 (3,6)	-
Total selon la classe chimique du constituant		69 (61,6)		39 (34,8)				4 (3,6)	

L'analyse de ces deux tableaux montre que, globalement, le caractère oxalo-calcique (Ox-Ca) est le prédominant dans toutes les classes d'âge chez les deux genres (**Figure 29**).

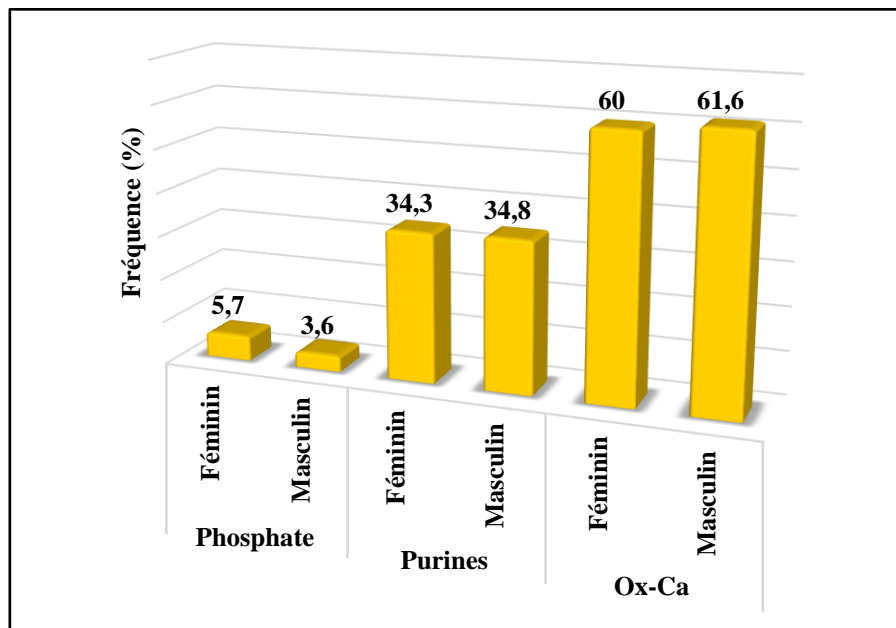


Figure 29 : Répartition des constituants majoritaires chez les hommes et les femmes.

La présence de cristaux d'oxalate de calcium est très commune et a généralement peu de signification clinique. La formation des cristaux d'oxalate de calcium peut résulter de la combinaison de plusieurs facteurs dont une diminution du volume urinaire ou encore une alimentation riche en oxalates (fruits, légumes, chocolat, etc.) ou en calcium (produits laitiers).

L'étude de la cristallurie peut apporter une aide utile lorsqu'elle met en évidence la présence de cristaux spécifiques tels que les cristaux d'oxalate de calcium, acide urique et phosphates. Lorsque le test de cristallurie est positif, cela peut être considéré comme des facteurs de risque de lithogène grossièrement affirmés par la présence d'inducteurs tels que des cristaux d'oxalate et de cystine [Sbahi K et al., 2015]. En effet, certaines études, ayant été réalisées dans la même région géographique de Béni Mellal-Khénifra, ont relié la fréquence relativement élevée de l'oxalate de calcium monohydrate (OCM) aux habitudes alimentaires des populations, notamment une consommation excessive de protéines animales et de sucre de betterave [Rabi S et al., 2015 ; Oussama A et al., 2000].

Le caractère oxalocalcique est sous forme d'oxalate de calcium monohydrate (OCM) (whewellite) et d'oxalate de calcium dihydraté (OCD) (weddelite) avec une fréquence de 61,6 % chez les hommes et 60 % chez les femmes. Le deuxième caractère fréquent est celui des purines (acide urique et urates) sous forme d'acide urique monohydraté (AUM), acide urique dihydraté (AUD), acide urique anhydre (AU_{An}) et urate amorphe complexe (UAC) avec une fréquence de 34,8 % chez les hommes et 34,3 % chez les femmes.

Le caractère phosphate apparaît sous forme de phosphate amorphe complexe carbonaté (PACC) avec une fréquence de 3,6 % chez les hommes, alors que chez les femmes, ce caractère apparaît sous forme de PACC et aussi de phosphates d'ammonium et de magnésium (PAM) avec une fréquence de 5,7%.

Par ailleurs, Il est à noter qu'en fonction de l'âge, la proportion des composés oxalocalciques augmente dans l'urine de plus en plus. Ceci peut s'expliquer par la baisse de la fonction rénale en fonction de l'âge.

En comparant les deux genres, l'analyse des résultats montre que la présence des cristaux dans les urines chez les hommes est majoritaire pour les tranches d'âges au-delà de 40 ans, alors que chez les femmes elle est fréquente pour la tranche d'âge entre 41 et 60 ans. Ces résultats obtenus sont plus proches à ceux de la littérature [Mbarki et al., 2005] qui ont montré que la présence des cristaux dans les urines chez les deux genres est majoritaire dans la tranche d'âge 40-60 ans. Il est à signaler que le genre et l'âge du patient sont des facteurs très importants, comme l'ont déjà montré d'autres études réalisées sur la cristallurie [Prabhu, N et al., 2015].

1.2.7 Classification par la méthode de l'Analyse en Composantes Principales (ACP)

La figure 30 suivante présente la carte factorielle des individus en trois dimensions. Elle permet la visualisation des projections des points correspondant aux 148 patients sur les trois premières composantes principales. Nous avons déterminé trois ou quatre classes des patients.

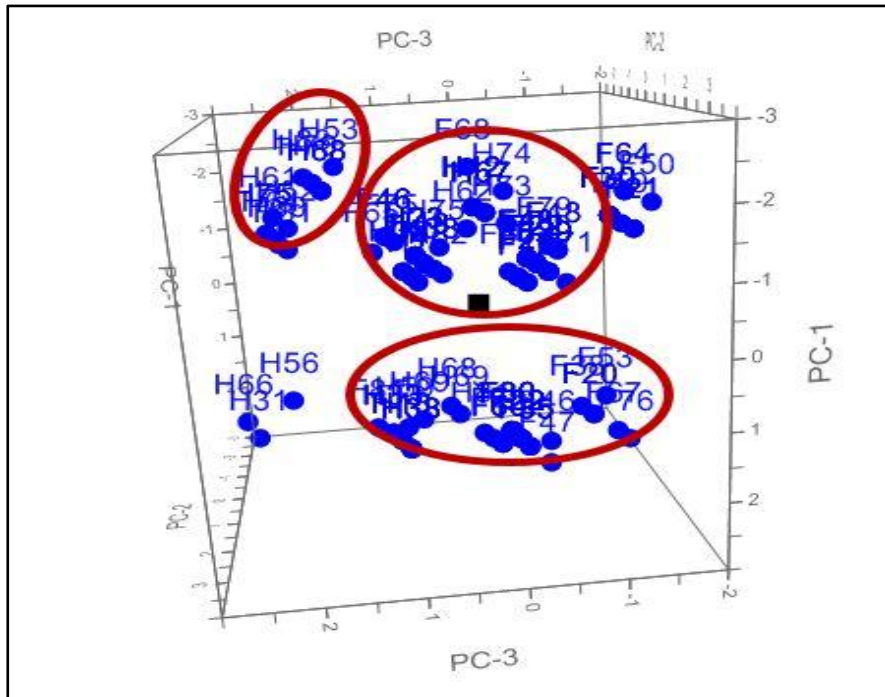


Figure 30 : Carte factorielle des individus 3D (PC1-PC2-PC3)

D'après la carte factorielle des individus (**Figure 30**), on remarque qu'on peut répartir ces derniers en trois ou quatre classes contenant aussi bien les femmes que les hommes. Le facteur genre des patients semble ne pas avoir d'impact sur la présence de la cristallurie des patients. Cependant, ce résultat n'explique pas le fait que la maladie de la lithiase urinaire présente une prédominance masculine comme il a été rapporté par des travaux antérieurs [Mbarki et al., 2005 ; El Guerrouj B et al., 2019]. En fait, la présence de la cristallurie ne signifie pas que le patient développe, forcément, le calcul urinaire, bien que l'équipe de [Wang T et al., 2010] en Australie a montré une certaine corrélation, en termes de nature chimique, entre calcul urinaire d'une part et cristallurie d'autre part.

La carte factorielle des individus montre une légère discrimination entre la cristallurie des patients jeunes et celle des patients âgés. D'ailleurs la cristallurie des enfants est différente de celle des autres patients. Ce résultat est en accord avec les travaux de l'équipe de Daudon, en France [Daudon M., 2005].

La figure 31 suivante montre les cercles de corrélations entre les neuf facteurs étudiés.

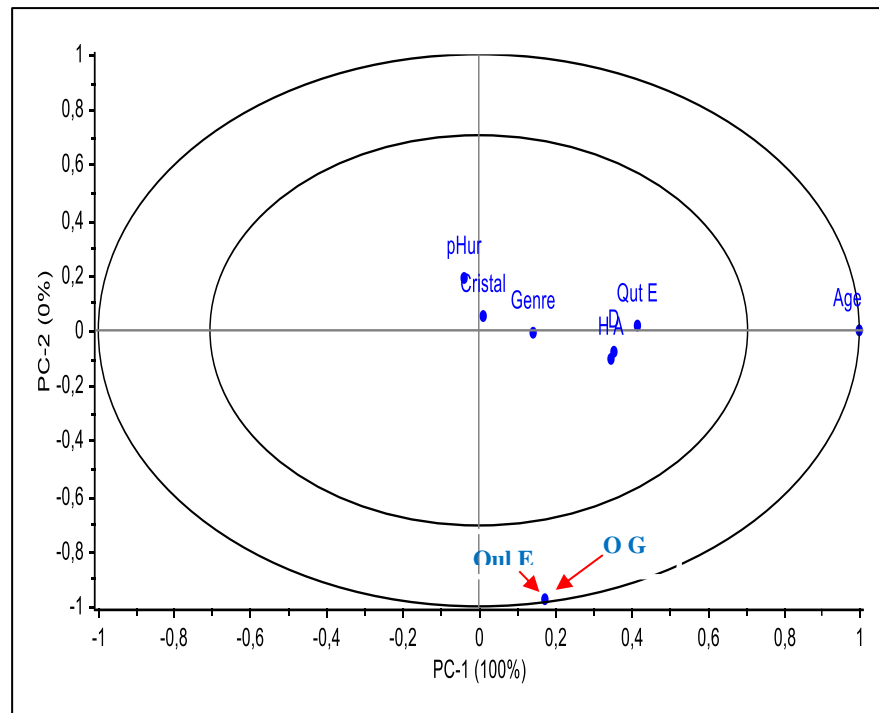


Figure 31 : Cercles de corrélations des variables : Genre ; Age ; Origine géographique (OG) ; Qualité d'eau (Qul E) ; Quantité d'eau/jour (Qut E) ; Hypertension artérielle (HA) ; Diabète (D) ; pH urinaire (pHur) et la Cristallurie

D'après les cercles des corrélations des neuf facteurs étudiés, on peut formuler les remarques suivantes :

- ✓ Il y a forte corrélation positive entre “l'origine géographique du patient” et “la qualité de l'eau consommée”.
- ✓ Il semble y avoir certaine corrélation positive entre la maladie du diabète d'une part et celle de l'hypertension artérielle d'autre part bien que cette information ne soit pas très pertinente. Il est à signaler que l'équipe de Mbarki [Mbarki M et al., 2005] a rapporté un profil chimique urique chez les femmes diabétiques. Cependant, peu de travaux ont été consacrés à l'éventuelle dépendance entre l'hypertension artérielle et la cristallurie ou lithiase.
- ✓ En outre le présent travail aurait détecté une corrélation négative entre le pH urinaire (pHur) d'une part et d'autres facteurs tels que “Origine géographique du patient”, “ Qualité d'eau consommée” d'autre part.

1.3 Conclusion

L'étude de la cristallurie est un important test de laboratoire de routine puisqu'il fournit des informations utiles pour le diagnostic et la prise en charge des pathologies rénales d'origine cristalline. Notre étude permet, pour la première fois, de déterminer les facteurs de risque de la cristallurie chez les patients de la région de Beni Mellal-Khenifra au Maroc. La recherche sérielle de la cristallurie est une méthode simple et peu coûteuse, elle peut être proposée comme un outil utile pour le suivi du développement de calculs calciques, en plus de la biochimie urinaire.

La microscopie optique à lumière polarisée couplée à une analyse en composantes principales serait une approche rapide, peu coûteuse et robuste des multiples facteurs influençant le profil chimique de la cristallurie humaine et favorisant le développement de calculs urinaires. Contrairement au facteur genre des patients, les facteurs âge, qualité de l'eau et origine géographique ont un impact direct sur la présence de la cristallurie et sa nature chimique. Par ailleurs, le pH urinaire ne semble pas être directement lié à la fréquence de la cristallurie. Outre les facteurs climatiques de la zone géographique, il semble que la population ait des habitudes alimentaires particulières qui nécessitent plus de recherches complémentaires pour pouvoir confirmer leur implication dans les processus lithiasiques. C'est ainsi qu'on peut conclure qu'il existe une forte relation entre la cristallurie et les différents paramètres étudiés.

Références bibliographiques

- Ammari S. Apport de l'étude de la cristallurie dans les pathologies cristallogènes et les lithiases rénales. Thèse de doctorat, Faculte de Medecine et de Pharmacie Rabat (2015).
- Bouzana F. Etude de l'intérêt biologique et clinique de la cristallurie et détermination des inhibiteurs de l'agrégation des cristaux urinaires de type (whewellite, struvite et brushite) à partir des substances chimiques et naturelles. Thèse de doctorat. Universite Abdelhamid Ibn Badis Mostaganem (2019).
- Cipu D. S., Cipu D., Vaduva D. B., Vaduva M. B., Dumitrascu V., Radulescu M., Velimirovici D. Biochemical, Pharmacological, and Therapeutic Effects of Triple Antihypertensive Therapy with Amlodipine, Valsartan and Hydrochlorothiazide in Elderly Hypertensive Patients with Calcium Phosphate Nephrolithiasis. *Revista de Chimie* (2019) ; 70(4) : 1245-1247.
- Daudon M. Cristallurie. *Néphrologie et Thérapeutique* (2015) ; 11(3) : 174-190.
- Djaroud S., Harrache D. Étude de l'effet d'Hordeum vulgare sur la cristallisation de l'oxalate de calcium dans l'urine. *Phytothérapie* (2013) ; 11(5) : 289-293.
- Daudon M. La cristallurie : un marqueur diagnostique et pronostique des pathologies cristallogènes et des lithiases rénales. *Revue francophone des laboratoires* (2013) ; 2013(455) : 67-73.
- El Jery H. K., Harzallah A., Chouchi S., Talbi E., Baccouch H., Abdelmoula J., Bouzouita A., Chebil M., Ben Hamida F., Abdallah T. B. Recherche de facteurs lithogènes au cours des lithiases oxalo-calciques : enquête épidémiologique. *Progrès en Urologie* (2016) ; 26(8) : 450-456.
- El Habbani R., Chaqroune A., Houssaini T. S., Arrayhani M., El Ammari J., Dami F., Chouhani B. A., Lahrichi A. Étude épidémiologique sur les calculs urinaires dans la région de Fès et sur le risque de récurrence. *Progrès en urologie* (2016) ; 26(5) : 287-294.
- El Guerrouj B., Bouhrim M., Bentata Y., Daudon M., Melhaoui M., Kharchoufa L., Bencheikh N., Bekkouch, O. Kidney Stone Disease (Urolithiasis): Epidemiological Study in the Eastern Region of Morocco. *European Journal of Scientific Research* (2019) ; 155 : 40-57.
- Hamida F., Atif M. L., Temmar M., Chibane A., Bezzaoucha A., Bouafia M. T. Prévalence de l'hypertension artérielle dans l'oasis d'El-Menia, Algérie, et profil métabolique de la population. In *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*. Elsevier Masson (2013) ; 62(3) : 172-178.
- Lotan Y., Daudon M., Bruyère F., Talaska G., Strippoli G., Johnson R. J., Tack I. Impact of fluid intake in the prevention of urinary system diseases: a brief review. *Current opinion in nephrology and hypertension* (2013) ; 22 : S1-S10.
- Mbarki M., Jabrane J., Oussama A., Daudon M., Traxer O. Étude de la cristallurie des sujets diabétiques. *Progrès en urologie (Paris)* (2005) ; 15(3) : 420-426.

- Mabele G. K., Ekisawa C. N., Delecluse C., Bompeka F. L., NkodilaNatuhoiyila A. Évaluation de la prévalence de l'hypertension artérielle de l'adulte en milieu du travail à Kinshasa, République Démocratique du Congo. *Science et Sports* (2018) ; 33(4) : 213-220.
- Oussama A., Kzaiber F., Mernari B., Hilmi A., Semmoud A., Daudon M. Analyse des calculs urinaires de l'adulte dans le Moyen Atlas marocain par spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier. *Progrès en urologie* (2000) ; 10(3) : 404-410.
- Prabhu N., Marzuk S. M. M., Banthavi S. P., Sundhararajan A., Uma A., Sarada V. Prevalence of crystalluria and its association with Escherichia coli urinary tract infections. *International Journal of Research in Medical Sciences* (2015) ; 3(5) : 1085.
- Rabi S., Echajia M., Tcheka C., Elhadiri N., Mbarki M. Study of crystalluria in goitrous patients. *International Journal of Innovation and Applied Studies* (2015) ; 10(2) : 687.
- Sekkoum K., Cheriti A., Taleb S. In vitro effect of wheat bran (*Triticum aestivum*) extract on calcium oxalate urolithiasis crystallization. *Natural product communications* (2011) ; 6(10) : 1934578X1100601008.
- Sbahi K., Kacem B., Semmoud A., Addou A. Study of correlation of crystalluria and hematuria for lithiasic and non lithiasic subjects. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease* (2015) ; 5(6) : 497-499.
- Sayad N. O., Ouhdouch F., Diouri A. P108 Profil épidémiologique et clinique des diabétiques de Demnat (région de Marrakech). *Diabetes et Metabolism* (2009) ; 35 : A53-A54.
- Tack I., Hébel P., Fantino M. Boire suffisamment d'eau peut-il protéger nos reins ? *Cahiers de Nutrition et de Diététique* (2016) ; 51(4) : 204-210.
- Tian Y., Cai X., Wazir R., Wang K., Li H. Water consumption and urinary tract infections: an in vitro study. *International urology and nephrology* (2016) ; 48(6) : 949-954.
- Thomas F., Bean K., London G., Danchin N., Pannier B. Incidence de l'hypertension artérielle dans la population française de plus de 60 ans. In *Annales de Cardiologie et d'Angéiologie*. Elsevier Masson (2012) ; 61(3) : 140-144).
- Wang T., Thurgood L. A., Grover P. K., Ryall R. L. A comparison of the binding of urinary calcium oxalate monohydrate and dihydrate crystals to human kidney cells in urine. *BJU international* (2010) ; 106(11) : 1768-1774.

Chapitre 2. Approche étiologique de la lithiase urinaire dans la région de Béni Mellal-Khénifra au Maroc

2.1 Introduction

La lithiase rénale est une conséquence de la cristallisation de diverses substances dans le tractus urinaire [Grases F et al., 2012]. Ces dernières années, plusieurs études ont souligné que la prévalence de la lithiase urinaire augmente, en particulier dans les pays développés [Raheem O. A et al., 2017 ; MJ R. T., 2017]. Elle impose une charge de morbidité importante aux États-Unis. La prévalence de la maladie des pierres est passée de 3,8% en 1976 à 5,2% en 1994 [Scales C. D et al., 2011 ; Stamatelou K. K et al., 2003].

Les observations cliniques indiquent une évolution de l'incidence et de la composition des calculs urinaires ainsi qu'une dynamique des incidences liées au genre et à l'âge [Knoll T et al., 2011; Strobe S. A et al., 2010]. Des études suggèrent également que l'incidence de la maladie symptomatique des calculs est en augmentation [Edvardsson V. O et al., 2013 ;Boyce C. J et al., 2010]. La formation d'un calcul urinaire, également appelée « lithogénèse », fait intervenir différents facteurs, génétiques et environnementaux [Castiglione V et al., 2015]. L'incidence et la composition des calculs urinaires ont considérablement évolué au cours du dernier demi-siècle dans les pays développés, parallèlement à de profonds changements du niveau de vie et des habitudes alimentaires, avec une augmentation spectaculaire de l'incidence des calculs d'oxalate de calcium [MJ R. T., 2017].

Dans la présente étude, nous avons étudié une série de patients lithiasiques dans le Centre Hospitalier Régional de Béni Mellal-Khénifra afin de préciser les facteurs pouvant influencer la présence de la lithiase urinaire dans la région de Béni Mellal-Khénifra.

2.2 Résultats et discussions

2.2.1 Répartition des patients selon le genre et l'âge

Dans notre étude, 208 patients présentant la lithiase urinaire proviennent d'une population vivant dans le moyen Atlas marocain. Il s'agit de 136 hommes (65%) pour 72 femmes (35%).

Le tableau 6 montre que le profil épidémiologique de cette maladie lithiasique a une prédominance masculine, avec un rapport homme/femme (H/F) global de 1,8 (Sexe ratio H/F=1,8). Ce rapport est comparable à celui observé au Maroc [Oussama A et al., 2000] et plus récemment en France [Abid N et al., 2017; Daudon M et al en 2008 et Ngaroua D et al., 2017], en Burkina Faso [Kaboré F. A et al., 2013] et dans une autre série marocaine [El Habbani R et al., 2016]. La plupart de ces études épidémiologiques étaient basées sur des statistiques hospitalières, des enquêtes en médecine générale ou des enquêtes de groupe sélectionnées.

Tableau 6 : Répartition des patients selon le genre et l'âge.

Tranches d'âge (ans)	Nombre de patients			Fréquence (%)	Rapport H/F
	Hommes (H)	Femmes (F)	Total		
<40	32	19	51	24,5	1,7
40≤60	34	25	59	28,4	1,4
> 60	70	28	98	47,1	2,5
Total	136	72	208	100	1,8

Par ailleurs, il est à signaler que le rapport H/F=1,8, trouvé dans notre étude, était encore plus élevé chez les sujets âgés de plus de 60 ans (H/F = 2,5) et diminué chez les sujets plus jeunes (H/F=1,7). L'âge moyen des patients au moment de la réalisation de la présente étude est de 50 ans. En effet, l'âge des patients est l'un des facteurs le plus important dans la présente étude. La présence des calculs urinaires est plus fréquente dans certaines tranches d'âge, ce qui traduit une évolution des facteurs de risque lithogène au cours de la vie en fonction de différents facteurs incluant les comportements nutritionnels, l'exposition aux infections et le fonctionnement rénal.

2.2.2 Répartition des patients selon l'origine géographique et la qualité de l'eau

Les résultats de la répartition des patients en fonction de la zone géographique et la qualité de l'eau sont illustrés graphiquement sur la figure 32. Nous avons identifié la qualité de l'eau chez 208 patients de la région de Béni-Mellal-Khénifra. On constate que 39 % des patients utilisent l'eau traitée (ET) et 61 % utilisent l'eau non traitée (ENT).

En fonction de l'origine géographique, le résultat obtenu montre que 40 % proviennent du milieu urbain (U) contre 60 % du milieu rural (R) (**Figure 32**). Ce résultat peut être lié au fait que la région siège du présent travail est une région à vocation agricole. D'où une tendance de spécificité rurale de la population. D'après ces résultats on remarque qu'il y a une forte corrélation entre l'origine géographique du patient et la qualité de l'eau consommée. Cela peut s'expliquer par le fait que dans le milieu rural, il y a un manque des stations de traitement de l'eau potable.

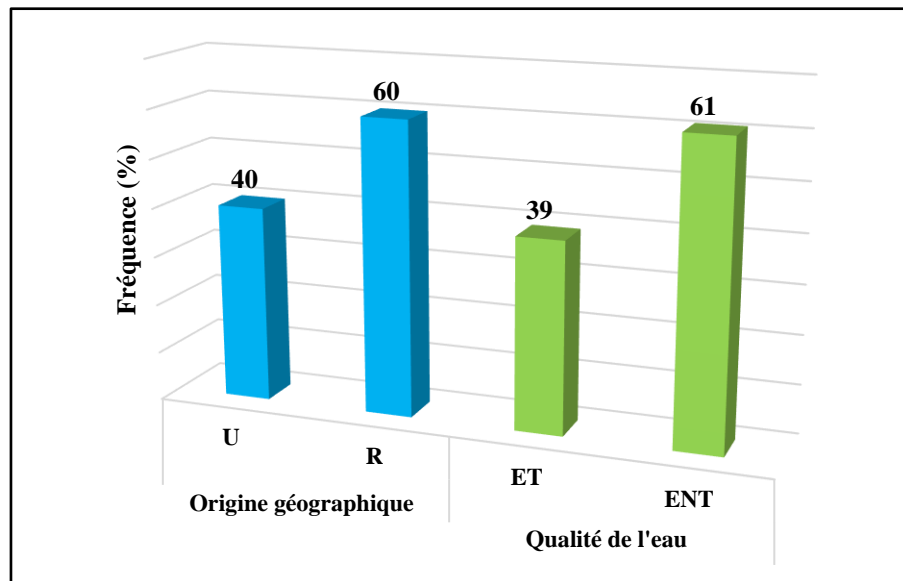


Figure 32 : Répartition des patients lithiasiques urinaires selon origine géographique (U : urbain, R : rural) et la qualité de l'eau (ET : eau traitée ; ENT : eau non traitée).

La qualité des eaux de boisson pourrait être l'un des facteurs favorisant la haute prévalence de la lithiase rénale dans la région de Béni Mellal-Khénifra. La composition chimique des eaux pourrait également être un facteur de risque très important dans la genèse des calculs rénaux.

A priori, une eau "dure" favoriserait le développement de la lithiase rénale. Des travaux réalisés sur l'effet de la qualité des eaux de boisson [Abeywickrama B et al., 2016 ; Rabi S et al., 2013] ont essayé de trouver d'éventuelles relations, aussi bien in-vivo qu'in-vitro, entre la nature de quelques éléments chimiques dans les eaux et la haute fréquence de la lithiase calcique chez certaines populations.

Des travaux antérieurs ont, également tenté d'établir des corrélations entre, d'une part la teneur de certaines substances (calcium, magnésium, sulfates, etc.) et d'autre part la composition chimique des calculs urinaires par des analyses physicochimiques [Stępień M et al., 2018] ou par des études épidémiologiques [Sorokin I et al., 2017]. L'eau a un rôle essentiel dans la prévention des calculs rénaux. Grâce à un apport hydrique adéquat, les urines sont diluées, ce qui permet de réduire la concentration en sels lithogènes comme l'oxalate de calcium et l'acide urique qui y sont présents et qui sont à l'origine de la formation des calculs urinaires [Stępień M et al., 2018 ; Sigdel, G et al., 2016].

2.2.3 Classification par la méthode de l'Analyse en Composantes Principales (ACP)

La figure 33 présente la carte factorielle en deux dimensions. Elle illustre la projection des points correspondant aux 208 patients sur les deux premières composantes principales. Nous avons déterminé qu'il y a deux classes de patients. La carte factorielle des individus montre une légère discrimination entre la lithiase des patients jeunes et celle des patients âgés. La répartition des patients selon l'âge montre une prédominance masculine qui correspond aux rapports d'autres travaux antérieurs [Bouatia M et al., 2015 ; Denstedt J. D et al., 2012 ; López M et al., 2010].

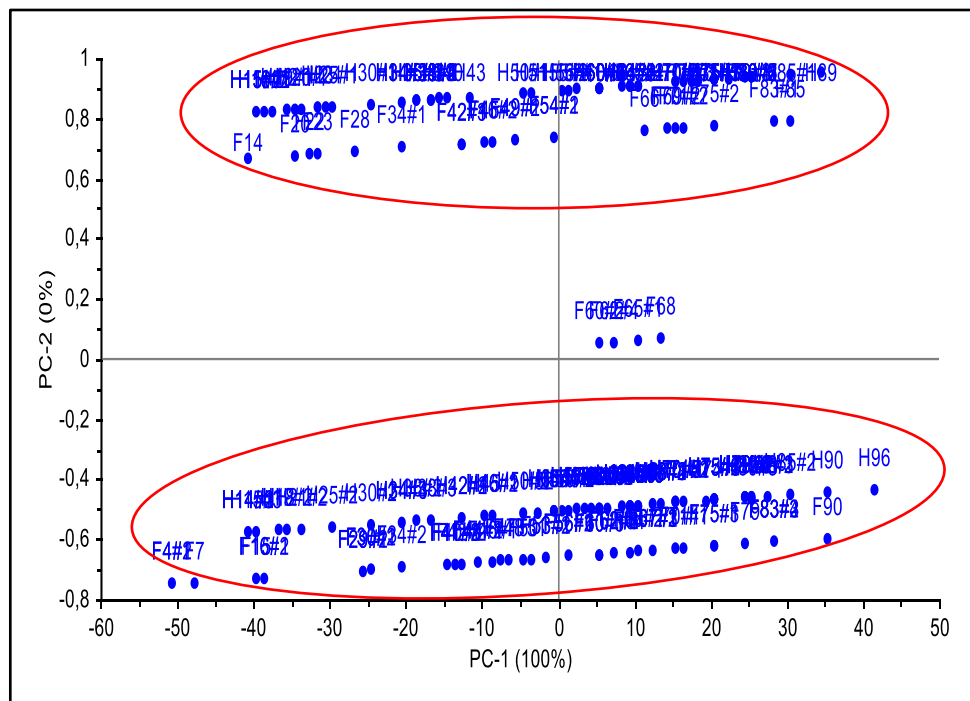


Figure 33 : Carte factorielle des individus lithiasiques urinaires (PC1-PC2).

La figure 34 représente les cercles des corrélations entre les facteurs étudiés dans le présent travail. D'après la figure 34, sachant que le genre masculin est le plus dominante, on observe qu'il y'a une forte corrélation positive entre la qualité de l'eau consommée et l'origine géographique des patients.

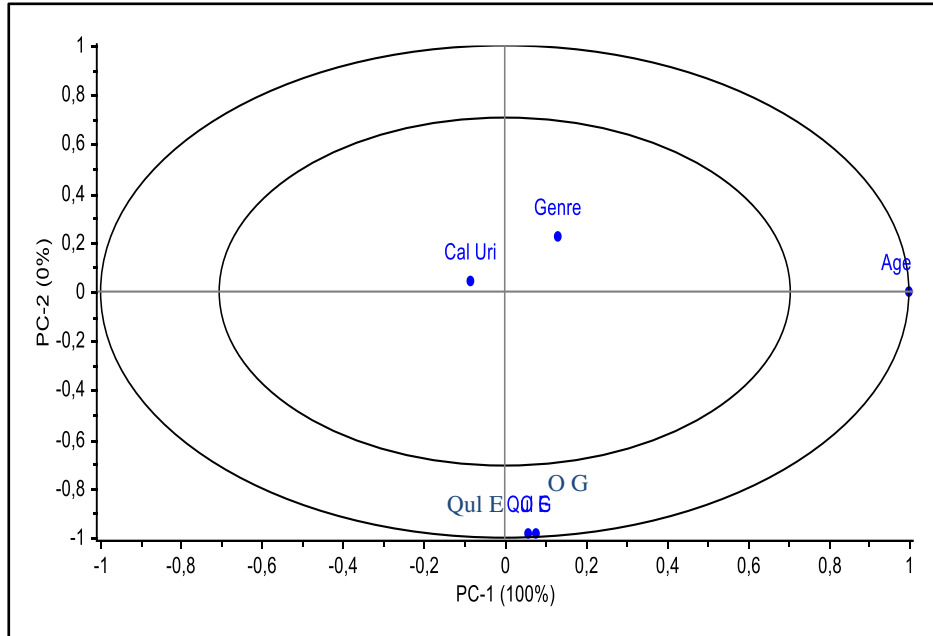


Figure 34 : Cercles de corrélations des variables : Genre ; Age ; Origine géographique (OG) ; Qualité d'eau (Qul E) ; et Calcul Urinaire (Cal Uri).

La figure 35 suivante représente la projection des facteurs dans les axes PC1 et PC2.

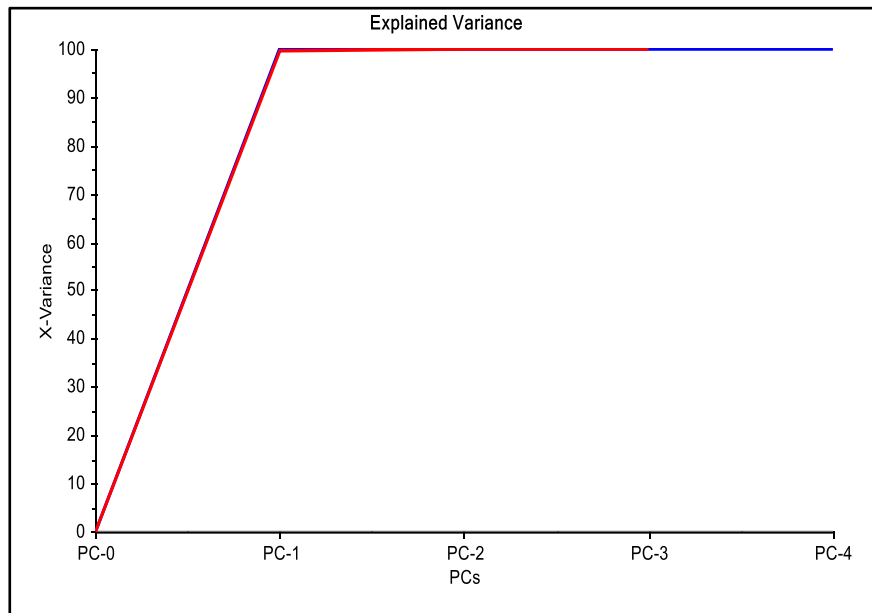


Figure 35 : Projection des variables dans les axes PC1 et PC2.

D'après la courbe de variance résiduelle présente dans la figure 35, on constate que le maximum de l'information est assuré par la première composante principale puisque l'erreur sur la prédiction devient minimale et constante.

Un tel résultat est important à exploiter en termes d'analyse des données puisqu'on peut se contenter de la PC1, sans passer aux deux composantes principales supérieures (PC2 et PC3), pour avoir des résultats de discrimination fiables.

2.3 Conclusion

L'urolithiase est une maladie caractérisée par la présence de calculs dans les voies urinaires. Ce sont des substances qui se cristallisent dans l'urine sous certaines conditions.

L'étude des cristaux urinaires est un moyen de détecter les maladies de calculs urinaires avant qu'elles ne provoquent des complications rénales. Le présent travail a montré que la lithiase urinaire, auprès de la population étudiée, dans la région Béni Mellal-Khénifra présente une prédominance masculine.

L'objectif principal que nous avons tracé pour cette étude est de réaliser une approche rapide et robuste de multiples facteurs influençant la présence de la lithiase urinaire dans la région siège du présent travail. Ce dernier a montré que, contrairement au facteur genre des patients, les facteurs de l'âge du patient, de la qualité de l'eau consommée et de l'origine géographique ont un impact direct sur la présence de la lithiase urinaire. Les caractéristiques épidémiologiques de la lithiase urinaire dans notre étude sont similaires à celles rapportées dans les études des pays industrialisés et reflètent le niveau socioéconomique et le degré de médicalisation des populations de la région de Béni Mellal au Maroc.

Références bibliographiques

- Abid N., Lemoine S., Roger C., Badet L., Machon C. Étude épidémiologique observationnelle de 4294 dossiers de calculs urinaires analysés sur un CHU. *Progrès en Urologie* (2017) ; 27(13) : 748.
- Abeywickrama B., Ralapanawa U., Chandrajith R. Geoenvironmental factors related to high incidence of human urinary calculi (kidney stones) in Central Highlands of Sri Lanka. *Environmental geochemistry and health* (2016) ; 38(5) : 1203-1214.
- Boyce C. J., Pickhardt P. J., Lawrence E. M., Kim D. H., Bruce R. J. Prevalence of urolithiasis in asymptomatic adults: objective determination using low dose noncontrast computerized tomography. *The Journal of urology* (2010) ; 183(3) : 1017-1021.
- Bouatia M., Benramdane L., Idrissi M. O. B., Draoui M. An epidemiological study on the composition of urinary stones in Morocco in relation to age and sex. *African journal of urology* (2015) ; 21(3) : 194-197.
- Castiglione V., Jouret F., Bruyere O., Dubois B., Thomas A., Waltregny D., Bekaert A. C., Cavalier E., Gadisseur R. Épidémiologie de la lithiase urinaire en Belgique sur base d'une classification morpho-constitutionnelle. *Néphrologie et Thérapeutique* (2015) ; 11(1) : 42-49.
- Daudon M., Traxer O., Lechevallier E., Saussine C. Épidémiologie des lithiases urinaires. *Progrès en urologie* (2008) ; 18(12) : 802-814.
- Denstedt J. D., Fuller A. Epidemiology of stone disease in North America. In *Urolithiasis*. Springer, London (2012) : 3-20.
- Edvardsson V. O., Indridason O. S., Haraldsson G., Kjartansson O., Palsson R. Temporal trends in the incidence of kidney stone disease. *Kidney international* (2013) ; 83(1) : 146-152.
- El Habbani R., Chaqroune A., Houssaini T. S., Arrayhani M., El Ammari J., Dami F., Chouhani B. A., Lahrichi A. Étude épidémiologique sur les calculs urinaires dans la région de Fès et sur le risque de récurrence. *Progrès en urologie* (2016) ; 26(5) : 287-294.
- Grases F., Costa-Bauza A., Gomila I., Ramis M., Garcia-Raja A., Prieto R. M. Urinary pH and renal lithiasis. *Urological research* (2012) ; 40(1) : 41-46.
- Knoll T., Schubert A. B., Fahlenkamp D., Leusmann D. B., Wendt-Nordahl G., Schubert G. Urolithiasis through the ages: data on more than 200,000 urinary stone analyses. *The Journal of urology* (2011) ; 185(4) : 1304-1311.
- Kaboré F. A., Kambou T., Zango B., Ouattara A., Simporé M., Lougué C., Lechevalier E., Karsenty G. Épidémiologie d'une cohorte de 450 lithiases urinaires au CHU Yalgado Ouédraogo de Ouagadougou (Burkina Faso). *Progrès en urologie* (2013) ; 23(12) : 971-976.
- López M., Hoppe B. History, epidemiology and regional diversities of urolithiasis. *Pediatric nephrology* (2010) ; 25 (1) : 49-59.

- MJ R. T. Epidemiology of urinary lithiasis in Spain: New scenarios. *Archivos españoles de urologia* (2017) ; 70(1) : 3-11.
- Ngaroua D., Djibrilla Y., Padouli H., Amvene J. M., Ngah J. E. Profil Épidémioclinique des Malades Opérés de Lithiases Urinaires à l'Hôpital CMAO de Meskine-Maroua : Une Étude de 46 Cas. *Health Sciences and Disease* (2017) ; 18(3).
- Oussama A., Kzaiber F., Mernari B., Hilmi A., Semmoud A., Daudon M. Analyse des calculs urinaires de l'adulte dans le Moyen Atlas marocain par spectrophotométrie infrarouge à transformée de Fourier. *Progrès en urologie* (2000) ; 10(3) : 404-410.
- Raheem O. A., Khandwala Y. S., Sur R. L., Ghani K. R., Denstedt J. D. Burden of urolithiasis: trends in prevalence, treatments, and costs. *European urology focus* (2017) ; 3(1) : 18-26.
- Rabi S., Mbarki M., Oussama A. Etude in vitro de l'effet de la qualité des eaux de boisson sur la cristallisation de l'oxalate de calcium et de l'acide urique. (2013) ; 69 :61-66
- Scales C. D., Krupski T. L., Curtis L. H., Matlaga B., Lotan Y., Pearle M. S., Saigal C., Preminger G. M., Urologic Diseases in America Project. Practice variation in the surgical management of urinary lithiasis. *The Journal of urology* (2011); 186(1): 146-150.
- Stamatelou K. K., Francis M. E., Jones C. A., Nyberg Jr L. M., Curhan G. C. Time trends in reported prevalence of kidney stones in the United States: 1976–1994. *Kidney international* (2003) ; 63(5) : 1817-1823.
- Strobe S. A., Wolf Jr J. S., Hollenbeck B. K. Changes in gender distribution of urinary stone disease. *Urology* (2010) ; 75(3) : 543-546.
- Stępień M., Chrzan R., Gawlas, W. In vitro analysis of urinary stone composition in dual-energy computed tomography. *Polish journal of radiology* (2018) ; 83 : e421.
- Sorokin I., Mamoulakis C., Miyazawa K., Rodgers A., Talati J., Lotan Y. Epidemiology of stone disease across the world. *World Journal of Urology* (2017) ; 35(9) : 1301-1320.

Chapitre 3. Etude de la lithiase biliaire

3.1. Approche étiologique de la lithiase biliaire dans la région de Béni Mellal-Khénifra au Maroc

3.1.1 Introduction

La maladie de la lithiase biliaire est l'une des maladies gastro-intestinales les plus répandues, qui représente une charge importante pour les systèmes de soins de santé et qui est censée d'augmenter dans les populations âgées à risque [Zhang D et al., 2013]. Elle peut provoquer des altérations de la voie biliaire principale ou de la papille, gênant l'écoulement de la bile chez environ 15 % des porteurs. Selon des recherches antérieures, la lithiase de la voie biliaire principale en représente la cause majeure [Pan L et al., 2018 ; Agadzhanov V. G et al., 2013].

L'obésité est un facteur de risque de lithiase biliaire cholestériques [Zhu L et al., 2014 ; Njeze G. E., 2013 ; Palermo M et al., 2013 ; Desbeaux A et al., 2010]. En effet, il existe une corrélation entre l'indice de masse corporelle et la fréquence des lithiases vésiculaires symptomatiques ou non [Chauhan V. V et al., 2019 ; Frybova B et al., 2018]. Par ailleurs, un amaigrissement rapide est également un facteur de risque de lithiase biliaire, par mobilisation du cholestérol endogène dont la concentration biliaire augmente [Stokes C. S et al., 2014 ; Conte D et al., 2011].

Les principaux facteurs de risque de lithiase biliaire sont: l'obésité, le syndrome métabolique, le diabète type 2, les contraceptifs et traitements hormonaux, les régimes hyperprotidiques, des facteurs génétiques et une perte rapide de poids [Haal S et al., 2022]. Cependant, le lien entre obésité et lithiase biliaire pourrait être liée à des facteurs confondants, par exemple, une alimentation riche en graisses, ou l'inactivité [Buffet C., 2014]. L'âge et le genre féminin sont des facteurs de risque bien établis pour la lithiase biliaire et parmi les facteurs de risque évitables, les habitudes alimentaires et un mode de vie sédentaire ont été associés au risque de formation de calculs biliaires [Tiderington E et al., 2016].

La lithiase biliaire représente l'un des troubles gastroentérologiques les plus courants et les plus coûteux dans de nombreux pays [Krawczyk M et al., 2013].

Ce travail a pour but de réaliser une approche aux multiples facteurs influençant la présence de la lithiase biliaire dans la région de Béni Mellal-Khénifra.

3.1.2 Résultats et discussions

3.1.2.1 Répartition des patients selon le genre et l'âge

L'étude a porté sur 198 femmes (87,6 %) et 28 hommes (12,4 %). La figure 36 montre que le rapport (femme/homme) entre les genres a été de 7. Donc, la prévalence de la lithiase biliaire a une prédominance féminine, ce qui rejoint les résultats d'autres études épidémiologiques où on a constaté que les femmes sont deux à trois fois plus atteintes que les hommes [Lammert F et al., 2016 ; Lachgar M et al., 2011 ; Mazlum M et al., 2011 ; Stinton L et al., 2010 ; Benrahhal S., 2018]. On peut aussi déduire de la figure que le sujet masculin s'expose à la lithiase, de plus en plus, à l'extrémité de la vie.

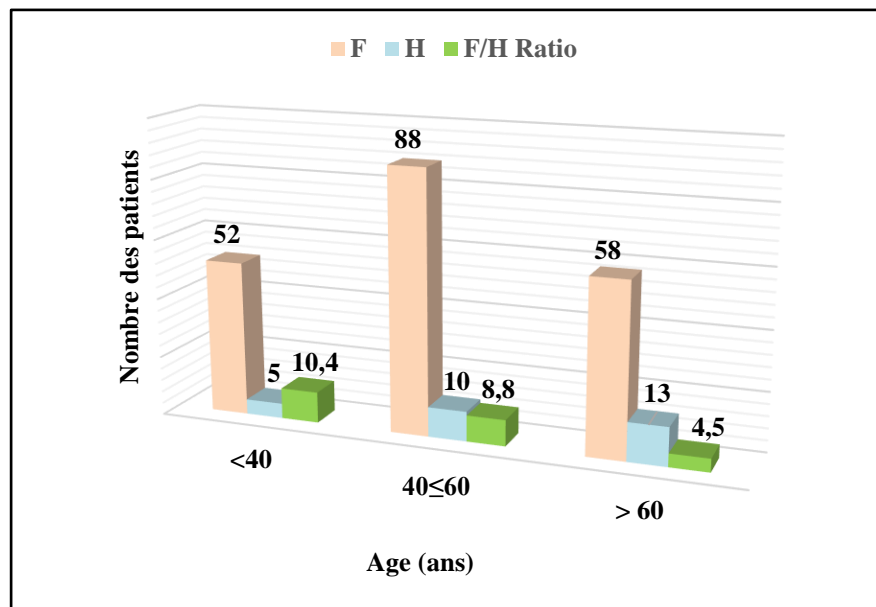


Figure 36 : Répartition des patients lithiasique biliaires selon l'âge et le genre (F : féminine ; M : masculin ; F/H : ratio).

Par ailleurs, Il est à noter que les 226 patients lithiasiques ont l'âge moyen de 45 ans. Ceci rejoint un peu les résultats obtenus dans d'autres séries [Benrahhal S., 2018 ; Yuan D et al., 2009]. Les calculs biliaires sont très rarement observés avant l'âge de 10 ans, et moins de 5 % des cholécystectomies sont effectuées avant l'âge de 20 ans, car c'est plutôt une pathologie de l'adulte où on a prouvé que sur 800 adultes présentant la lithiase biliaire, il n'y a qu'un enfant ou adolescent atteint [Benrahhal S., 2018].

Nous montrons que la prévalence de la lithiase biliaire augmente avec l'âge jusqu'à un pic situé entre 40 et 69 ans, puis diminue avec le vieillissement de la population. Ce résultat est concordant avec ceux des résultats d'autres études épidémiologiques [Buffet C., 2014 ; Abergel A et al., 2018].

En d'autres termes, bien que l'augmentation globale de la prévalence des calculs biliaires liée à l'âge soit similaire, le pourcentage d'augmentation au sein de chaque classe d'âge dépend également du genre. Toutes les études épidémiologiques ont montré que l'augmentation de l'âge était associée à une prévalence accrue des calculs biliaires. Les calculs biliaires sont quatre à dix fois plus fréquents chez les sujets plus âgés que chez les plus jeunes [Bergman S et al., 2011 ; Lee, J. Y. et al., 2015 ; Ansari-Moghaddam, A et al., 2016].

3.1.2.2 Répartition des patients selon l'origine géographique et la qualité de l'eau

Les résultats de la répartition des patients en fonction de la zone géographique et la qualité de l'eau sont illustrés graphiquement sur la figure 37.

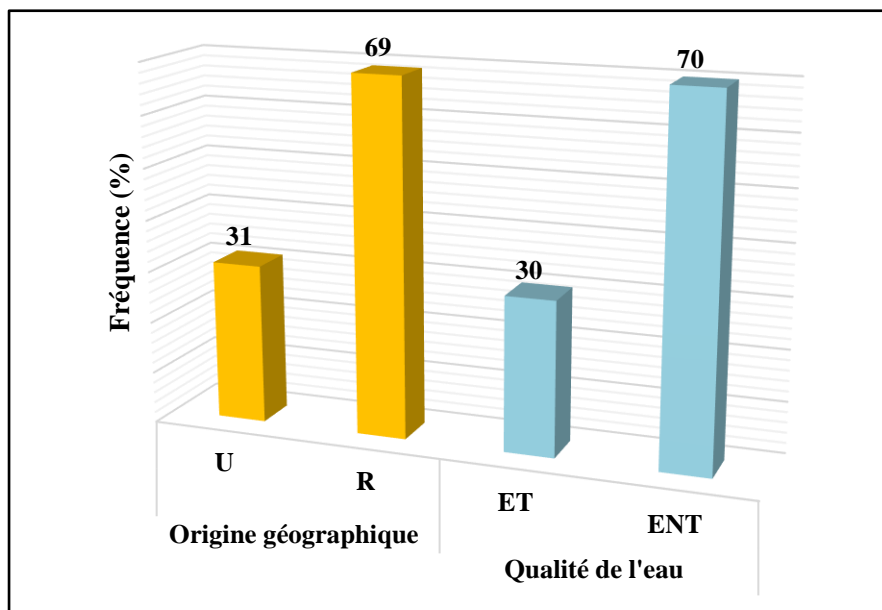


Figure 37 : Répartition des patients lithiasiques biliaires selon l'origine géographique (U : urbain, R : rural) et la qualité de l'eau (ET : eau traitée ; ENT : eau non traitée).

Nous avons étudié la présence de la lithiase biliaire dans la région de Béni Mellal Khénifra en fonction de la zone géographique. Dans l'ensemble de la population étudiée, 31 % des patients dans le milieu urbain (U) et 69 % dans le milieu rural (R).

Les résultats révèlent qu'une telle répartition entre le milieu urbain et le milieu rural est conforme aux rapports publiés précédemment par [Nagaraj S. K et al., 2012] et non conforme aux série de [Shelton J et al., 2012]. Une forte prévalence de la maladie de la lithiase biliaire dans le milieu rural justifiait une population prédisposée à des facteurs de risque environnementaux.

Une eau de mauvaise qualité présente des impacts sur le corps humain lorsque certains éléments dans l'eau se retrouvent en concentration supérieure aux recommandations pour la qualité de l'eau potable.

Nous avons identifié la qualité de l'eau chez 226 patients de la région de Béni Mellal, ainsi 30 % de ces patients consomment de l'eau traitée (ET), et 70 % de l'eau non traitée (ENT). D'après ces résultats on remarque qu'il y a une forte corrélation entre l'origine géographique du patient et la qualité de l'eau consommée. Cela peut s'expliquer par le fait que dans le milieu rural, il y a un manque des stations de traitement de l'eau potable.

3.1.2.3 Répartition des patients selon l'apport hydrique journalier (L /J)

Les résultats de notre enquête, rapportés dans la figure 38, montrent que 73 % des patients consomment une quantité d'eau inférieure à la norm (**Figure 38**).

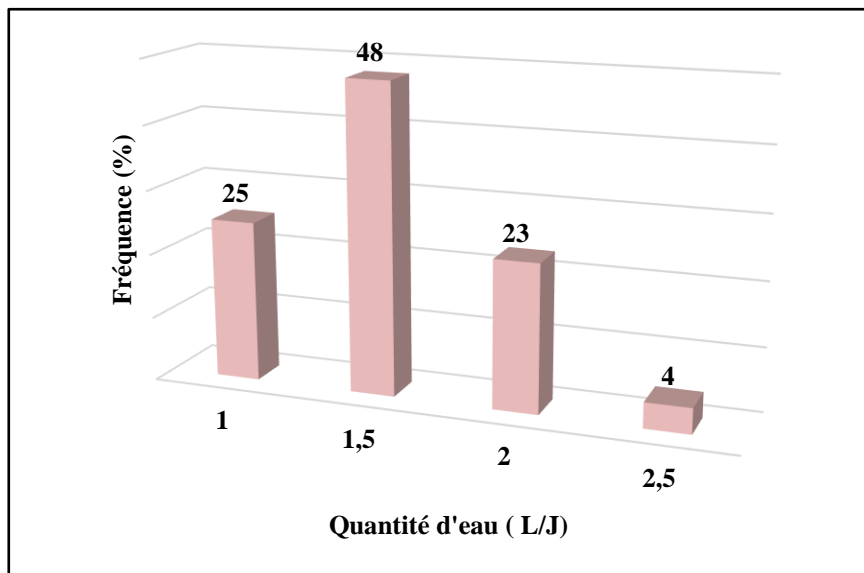


Figure 38 : Répartition des patients selon l'apport hydrique journalier (Litres/ Jours (L /J)).

L'eau est le principal constituant des êtres vivants et représente environ 60 % de notre poids. Ce dernier a besoin de renouveler une certaine quantité d'eau, afin de rester bien hydraté. Ceci montre que le patient doit veiller à augmenter la ration journalière afin qu'elle soit de l'ordre de 2,5 à 3 L par jour [Tack I et al., 2016]. Cependant, les résultats montrent que des individus consommant 2,5L/J présentent également la lithiase biliaire ; ceci peut être expliqué par le fait que cette dernière dépend d'autres paramètres tels que la qualité d'eau consommée (présence d'agents infectieux, produits chimiques toxiques), la nature de l'alimentation, les médicaments etc. Une alimentation hypercalorique, trop grasse, entraîne une concentration sanguine trop élevée en cholestérol.

3.1.2.4 Répartition des patients lithiasiques selon la maladie diabétique et d'hypertension artérielle

La figure 39 montre la répartition des patients lithiasiques présentant du diabète et d'hypertension artérielle selon le genre.

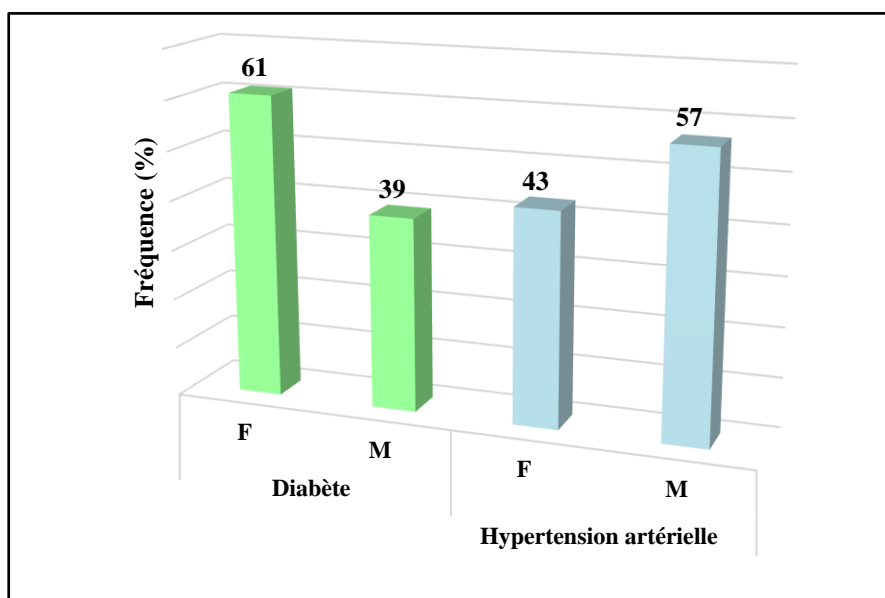


Figure 39 : Répartition des patients (lithiasiques biliaires) du diabète et d'hypertension artérielle selon le genre.

Parmi les 226 patients de la lithiase biliaire, la prévalence globale de la maladie du diabète était de (61/226) (26,9 %) et celle de la maladie d'hypertension artérielle était de (30/226) (13,27 %).

La population de 61 diabétiques était constituée relativement en majorité par des femmes, celles-ci représentaient 61 % de l'effectif total, ainsi que la population de 30 patients d'hypertensions artérielles était constituée en majorité par des hommes, ceux-ci représentaient 57 % de l'effectif total.

Le diabète semble être associé à un risque de lithiase biliaire plus important mais également de pancréatite aiguë d'origine biliaire [Bonnet, F., 2019]. À notre connaissance, la présente étude fournit les premières données prospectives sur la relation entre les calculs biliaires, le risque de diabète et l'hypertension artérielle. Étant donné que la maladie du calcul biliaire du cholestérol est un problème métabolique, elle devrait être en corrélation avec la maladie du diabète.

Des travaux [Stinton L. M et al., 2010 ; Agunloye A. M et al., 2013 ; Stinton L. M et al., 2012] on également montrait une certaine corrélation entre la maladie du diabète et les calculs du cholestérol. Un certain nombre de facteurs de risque de maladie des calculs biliaires ont été identifiés, tels que l'âge, l'obésité, le diabète et l'hypertension artérielle [Lai Fan L et al., 2017]. Bien que le diabète soit souvent considéré comme une maladie caractérisée par un risque important de calculs biliaires, les preuves à l'appui restent contradictoires, principalement en raison des différences dans les approches méthodologiques [Bergman S et al., 2011]. La plupart des données épidémiologiques concernant l'association entre le diabète et la lithiase biliaire proviennent d'autopsies ou d'études en milieu hospitalier [Wang, F et al., 2019 ; Shabanzadeh, D. M et al., 2017 ; Lv, J et al., 2017 ; Wang, W et al., 2014] avec un possible biais de sélection en termes de répartition par âge et de concomitance de divers facteurs responsables d'un risque important de cholélithiase [Bergman S et al., 2011].

3.1.2.5 Répartition des patients selon des antécédents familiaux

Parmi les 226 cas étudiés, 36 patients rapportaient des cas similaires dans leurs familles soit 15,9 % seulement. En fait, 9 cas des patients sont des hommes et 27 cas sont des femmes. Les antécédents familiaux sont sous forme d'informations liées aux troubles dont ont souffert des parents directs du patient. L'existence d'un antécédent familial est un facteur de risque à part entière même en l'absence de toute anomalie héréditaire. Ceci peut s'expliquer par l'influence des mariages entre membres de la même famille.

D'où la transmission, selon les lois de la génétique, qui est due à une ou plusieurs anomalies sur un ou plusieurs chromosomes qui entraînent un défaut de fonctionnement de certaines cellules de l'organisme.

3.1.2.6 Répartition des patients selon le type de calcul

D'après la figure 40, on remarque que 45 % des patients ont des calculs avec noyau, par contre 55% ont des calculs sans noyau. 42 % des femmes, contre 3% des hommes, ont des calculs avec noyau, et 45 % des femmes, contre 10% des hommes, ont des calculs qui n'ont pas de noyau (PN).

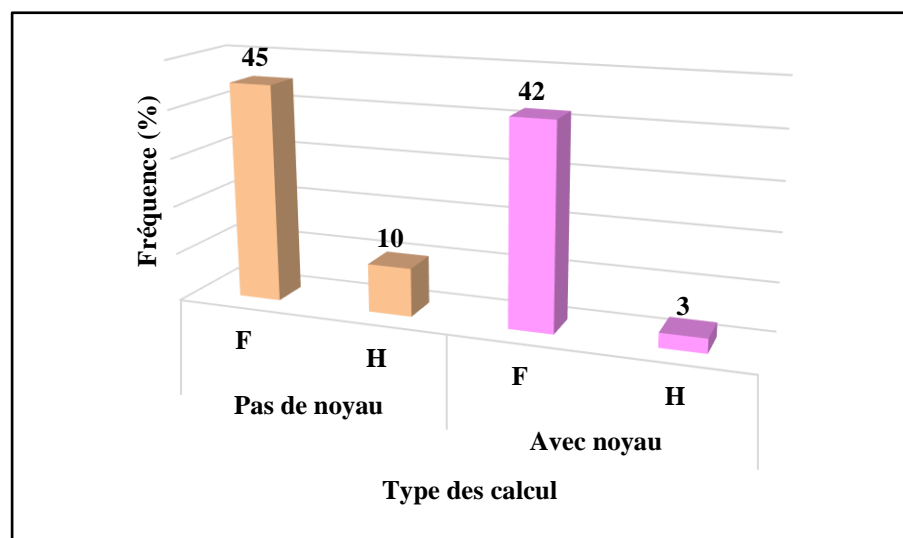


Figure 40 : Répartition des patients lithiasiques biliaires selon le type de calcul.

La figure 41 représente la répartition des patients présentant des calculs avec noyau selon l'âge. On remarque que les calculs biliaires ayant un noyau sont très rarement observés avant l'âge de 40 ans, avec une fréquence de 9% et plus observé, pour l'âge supérieur à 40 ans avec une fréquence de 81%. Cela peut s'expliquer par le fait que le noyau se forme avec l'âge des patients. On observe que la couleur et la dureté des calculs est variée. A ce niveau, nous signalons que les calculs avaient toujours un noyau solide, par conséquent favorisent l'inflammation du corps humain.

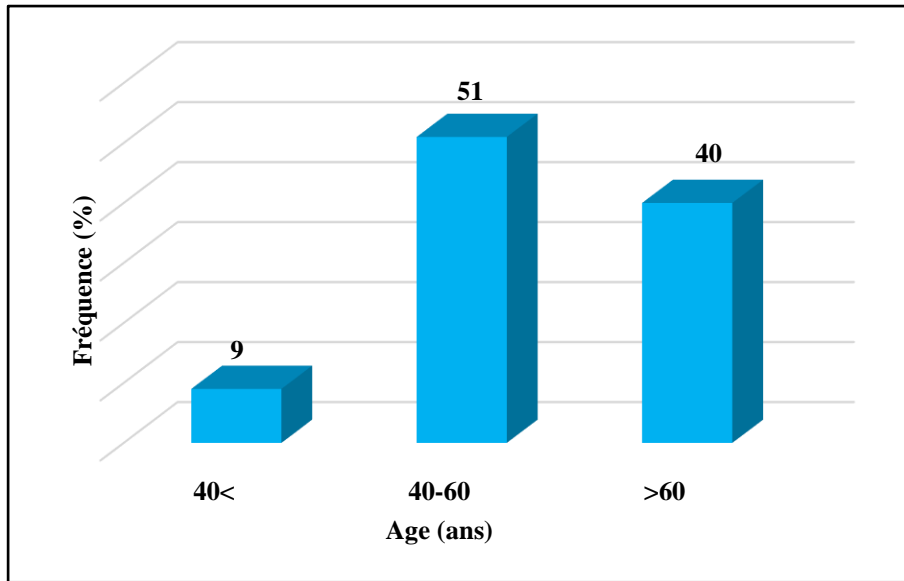


Figure 41 : Répartition des patients lithiasiques biliaires présentant des calculs avec noyau selon l'âge.

3.1.2.7 Répartition des patients selon le type de cholécystite

Les résultats de l'étude microscopique des vésicules biliaires ont été exprimés en termes de fréquence et de types de cholécystite en fonction du genre et de l'âge des patients (**Figures 42 et 43**).

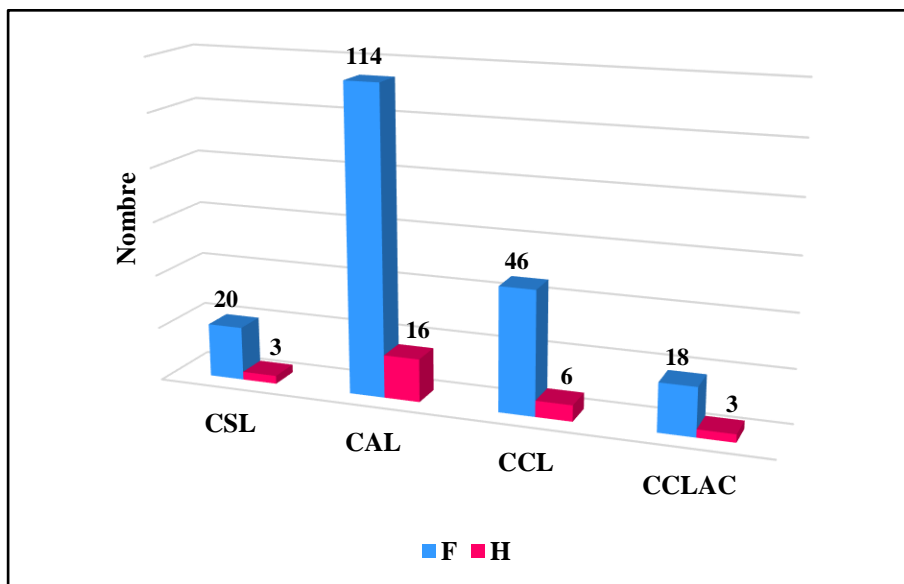


Figure 42 : Distribution du type de vésicule biliaire (CSL : Cholécystite simple lithiasique, CAL : Cholécystite aiguë lithiasique, CCL : Cholécystite chronique lithiasique, CCLAC : Cholécystite chronique lithiasique avec cholestérol) selon le sexe dans la population totale (n = 226) (n = 28 chez l'homme ; n = 198 chez la femme).

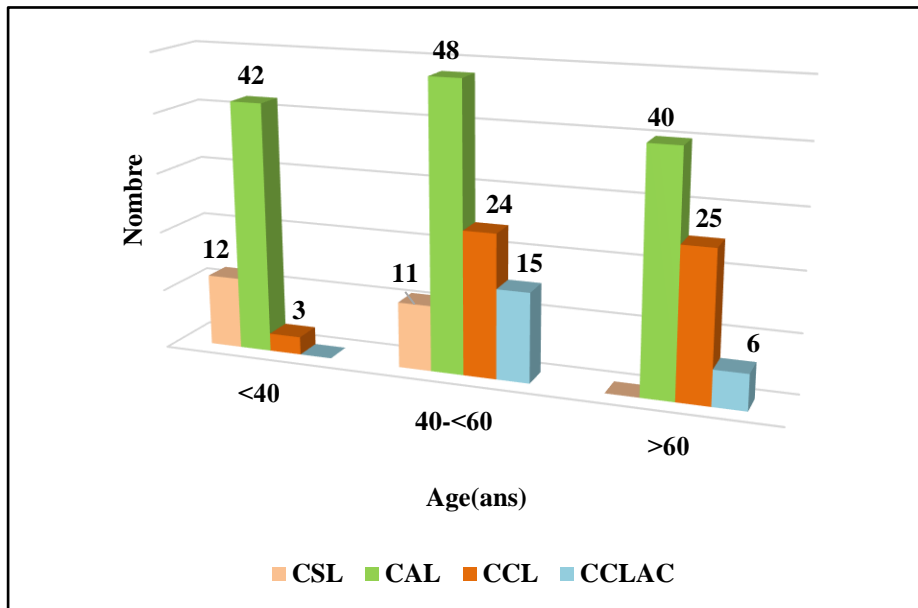


Figure 43 : Distribution du type de cholécystite selon l'âge dans la population totale (n =226).

Le type de cholécystite le plus fréquent chez les deux sexes est la cholécystite aiguë lithiasique. Ce type est le plus dominant chez tous les groupes d'âge.

Les résultats montrent que 10,2 % des patients présentent une lithiase vésiculaire simple, montrant l'absence de signe de malignité, alors que 89,8 % présentent des cas compliqués (**Figure 44**).

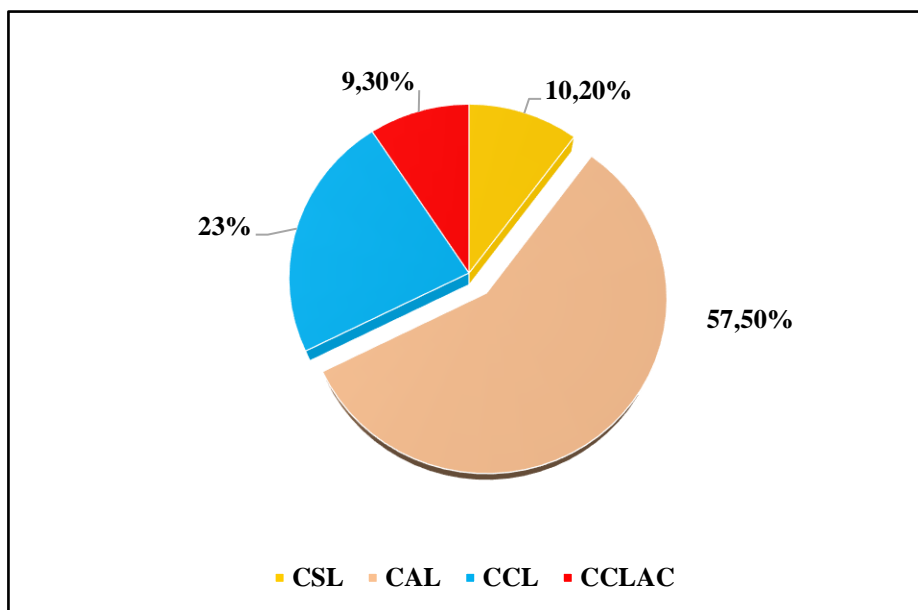


Figure 44 : Prévalence du type de cholécystite

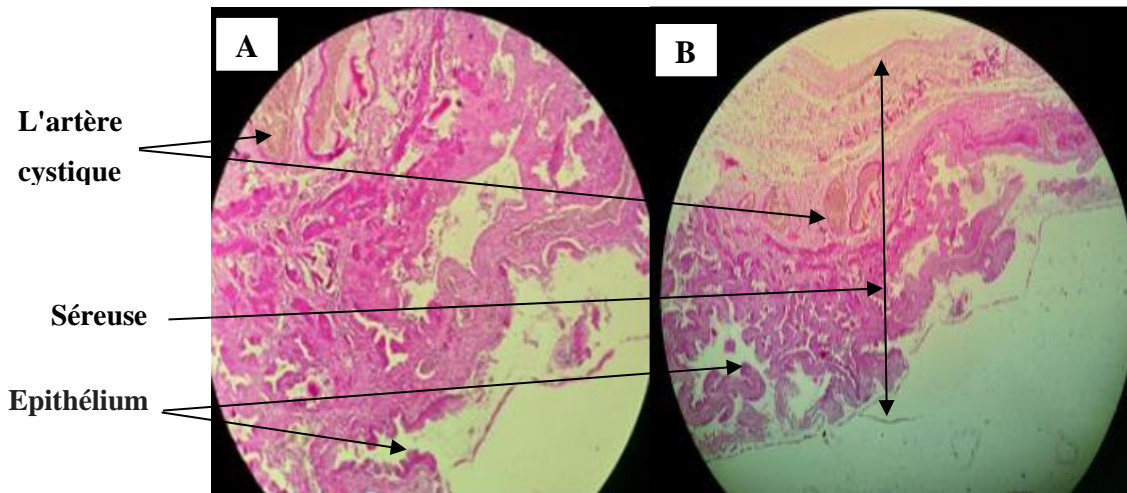


Figure 45 : Micrographies des types de cholécystite, par Microscopie Optique à Lumière Polarisée (MOLP) (A : Cholécystite chronique lithiasique avec cholestérol ($\times 200$) ; B : Cholécystite chronique lithiasique ($\times 200$)).

La perforation vésiculaire au cours de la cholécystite est souvent la conséquence d'une évolution défavorable d'une forme gangréneuse non traitée rapidement par chirurgie. Une étude ayant concerné le plus grand nombre de patients âgés ayant eu une chirurgie précoce pour cholécystite aiguë lithiasique (CAL) dans la littérature, montre que la cholécystectomie précoce est une option thérapeutique valable en cas de cholécystite modérée [Loozen, C. S et al., 2018].

Globalement, les patients âgés étaient plus fatigués et avaient plus de comorbidités au moment de la CAL, comme dans le présent travail. Alors qu'on pourrait s'attendre à plus de complications (particulièrement cardiopulmonaires) chez les patients âgés, la plupart des études ne trouvent pas de différences majeures avec le groupe de patients plus jeunes [Ambe P. C et al., 2015 ; Fuks D et al., 2015 ; Fukami Y et al., 2014 ; Nikfarjam M et al., 2014]. En outre, la cholécystectomie précoce serait généralement admise comme la procédure standard pour les patients jeunes souffrant de cholécystite aiguë.

A ce niveau, nous avons comparé les résultats des patients jeunes et en bonne santé à ceux des patients âgés qui subissent une chirurgie pour une cholécystite aiguë. L'âge du patient ne peut être le seul facteur permettant de décider si un patient souffrant d'une cholécystite aiguë est apte ou non à subir une intervention chirurgicale.

La cholécystite aiguë résulte de l'obstruction du canal cystique ou de la vésicule biliaire par l'impaction d'un calcul biliaire dans 95% des cas, avec une inflammation de la paroi de la vésicule biliaire, souvent associée à une infection bactérienne [Zemour J et al., 2014]. La cholécystite aiguë ne survient que dans 5 % des cas, généralement chez les patients en cas de traumatismes multiples, lorsque l'inflammation de la vésicule biliaire est due à des événements hémorragiques ou ischémiques ou à une stase biliaire (alimentation parentérale) [Boulay-Coletta I et al., 2009]. La cholécystite aiguë lithiasique (CAL) est une affection fréquente représentant près d'un tiers des urgences chirurgicales [Loozen, C. S et al., 2018 ; Yokoe, M et al., 2012]. Elle est associée dans plus de 90 % des cas à une lithiase vésiculaire [Kimura Y et al., 2013] présente chez 10 à 15 % de la population générale [Loozen, C. S et al., 2018].

Des études antérieures ont montré que les développements de la lithiase vésiculaire et de la cholécystite sont fortement liés à l'âge [Kim H. S et al., 2019 ; Chilimuri S et al., 2017 ; Lammert, F et al., 2016 ; Lammert F et al., 2016 ; Cho J. Y et al., 2010].

Une cholécystite chronique lithiasique peut compliquer des épisodes intermittents et répétés d'obstruction du canal cystique. C'est une inflammation de longue date de la vésicule biliaire, presque toujours due à une lithiase biliaire. Une inflammation chronique de la paroi vésiculaire est presque toujours associée à la présence de calculs et résulte vraisemblablement d'épisodes répétés de cholécystite aiguë ou subaiguë ou d'une irritation mécanique persistante de la paroi vésiculaire [Zemour J et al., 2014]. La cholécystite chronique est un trouble courant de la vésicule biliaire lithiasique. En fait, on pense que la cholécystite chronique est le résultat d'un retard de diagnostic.

3.1.2.8 Classification par les méthodes de l'Analyse en Composantes Principales (ACP)

D'après la figure 46 qui représente la carte factorielle des individus, on remarque qu'on peut répartir ces derniers en deux classes. En fait, les deux classes ne semblent pas être basées sur le facteur sexe ni âge. Cependant, le premier axe factoriel PC1 explique, au mieux, l'influence du facteur âge sur la cholélithiase. Cet axe factoriel explique la quasi-totalité de l'information provenant des huit facteurs étudiés. Ces résultats confirment que la cholélithiase est une maladie multiple.

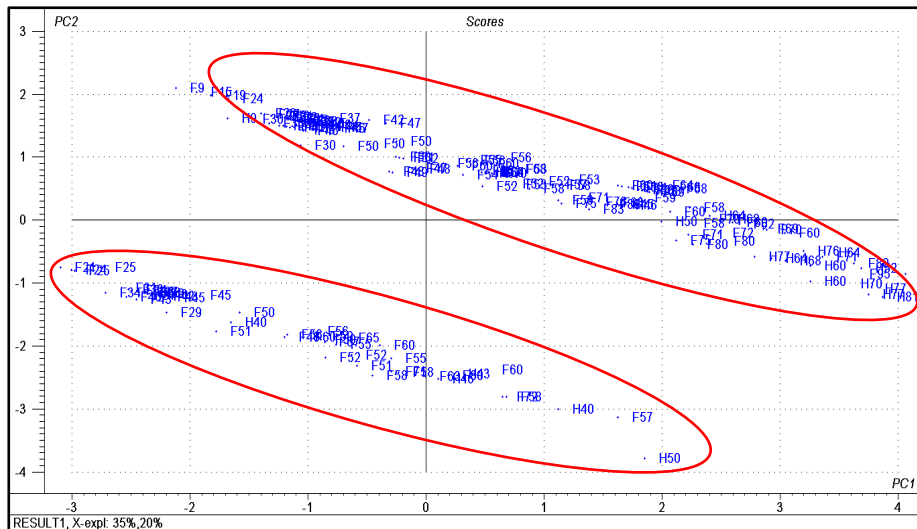


Figure 46 : Carte factorielle des individus lithiasiques biliaries 2D (PC1-PC2).

La figure 47 représente les cercles des corrélations entre les facteurs étudiés dans la présente étude. On constate qu'il y aurait corrélation positive entre la maladie du diabète et celle de l'hypertension artérielle d'une part et genre des patients d'autre part. En fait, il y a forte corrélation positive entre ce type de maladie d'une part et la fréquence de développement de lithiase dont les calculs à noyau. En plus, il y aurait une corrélation négative faible entre la qualité de l'eau et le développement du calcul biliaire à noyau. Une corrélation relativement faible a été détectée entre la quantité d'eau consommée par les patients et le type de cholécystite.

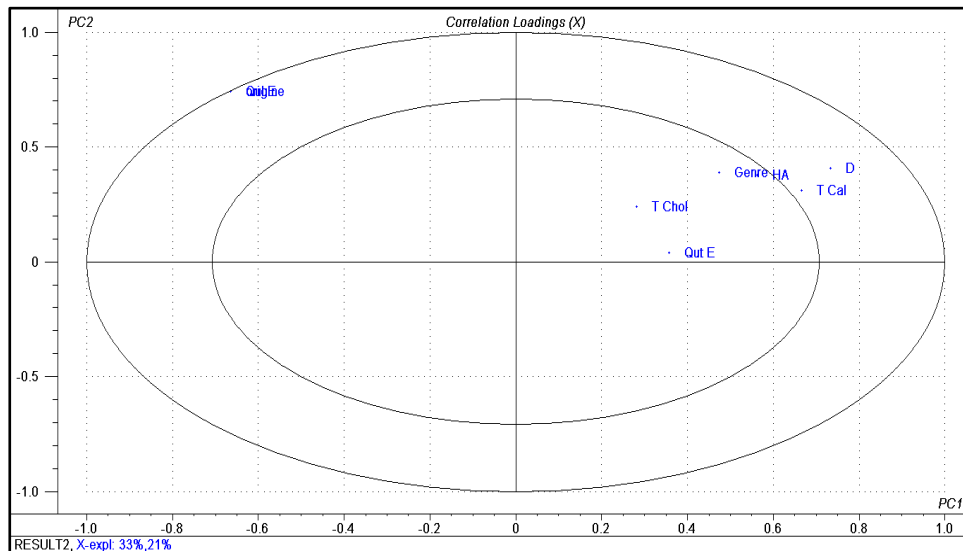


Figure 47 : Cercles de corrélations des variables : Genre ; Age ; Origine géographique (OG) ; Qualité d'eau (Qul E) ; Quantité d'eau/jour (Qut E) ; Hypertension artérielle (HA) ; Diabète (D) ; Type de Cholécystite (T chol) ; Type de calcul (T cal).

3.1.3 Conclusion

Le présent travail avait comme objectif principal l'étude de l'influence de certains paramètres sur la présence de la lithiase biliaire dans la région de Béni Mellal-Khénifra.

La lithiase biliaire s'est avérée une maladie multifactorielle dans laquelle plusieurs facteurs auraient un impact. C'est une maladie très fréquente, souvent asymptomatique mais pouvant être à l'origine de complications graves. Plusieurs études épidémiologiques descriptives, ont démontré que la distribution de la lithiase biliaire était influencée par l'âge, le genre, l'origine ethnique, l'obésité ainsi que d'autres facteurs. Les paramètres de l'âge et du genre auraient un impact moindre que celui détecté dans les cas des maladies du diabète et d'hypertension artérielle. Une certaine corrélation positive entre ces maladies d'une part et la formation de calculs à noyau d'autre part a été constatée. On remarque qu'il y aurait une certaine corrélation négative, bien que faible, entre la qualité de l'eau de boisson consommée par le patient, d'une part et le développement du calcul biliaire à noyau, d'autre part.

3.2 Composition de phase et caractérisation morphologique des calculs biliaires humains par Microscopie Electronique à Balayage (MEB), Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF) et Diffraction des Rayons X (DRX)

3.2.1 Introduction

La prévalence des calculs biliaires dans la population adulte varie de 10 à 15 %. Dans les pays occidentaux, les calculs biliaires selon les classes comme suivantes : les calculs biliaires de cholestérol qui contiennent plus de 50 % de cholestérol (près de 75 % des calculs biliaires) et les calculs biliaires pigmentaires qui contiennent moins de 30 % de cholestérol en poids, qui peuvent être subdivisés en calculs biliaires pigmentaires noirs et en calculs biliaires pigmentaires bruns [Cariati A., 2015].

Les calculs biliaires représentent une lourde charge pour les systèmes de soins de santé : 10 à 20 % des Européens et des Américains sont porteurs de calculs biliaires [Shareef K. M et al., 2015]. Cependant, le taux moyen de développement de calculs biliaires symptomatiques est faible, environ 2 % par an [Abraham S et al., 2014]. La prévalence de la maladie des calculs biliaires augmente, peut-être en raison de l'allongement de l'espérance de vie et du changement des habitudes alimentaires. En fait, une étude précise des calculs biliaires est utile pour comprendre leur pathogénèse.

Les calculs biliaires sont des amas de matière solide qui se forment dans la bile stockée dans la vésicule biliaire. La fonction principale de la vésicule biliaire est de concentrer la bile par l'absorption d'eau et de sodium. Les calculs de cholestérol sont composés principalement de cholestérol. Les calculs pigmentaires sont composés de bilirubine et d'autres substances, telles que le calcium, qui se trouvent dans la bile.

Des travaux publiés antérieurement font état de données discordantes provenant de l'analyse chimique des calculs biliaires et classent les calculs biliaires comme étant du cholestérol pur ou mixte et des calculs biliaires de bilirubine [Cariati A., 2015 ; Jarrar B. M et al., 2011]. Les méthodes analytiques telles que l'analyse chimique, MEB, IRTF et DRX sont généralement utiles au classement qualitatif et quantitatif du calcul biliaire.

Dans la présente étude, la caractérisation structurale, la quantification de phase et le comportement morphologique de vingt (20) calculs biliaires humains hospitalisé à l'Hôpital Régional de Béni-Mellal ont été réalisés par Microscopie Electronique à Balayage (MEB), Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier (IRTF) et Diffraction de Rayons X.

3.2.2 Résultats et discussions

Les résultats ont révélé que le cholestérol était présent en forte concentration dans toutes les parties des calculs biliaires étudiés. Ainsi, 95 % des patients avaient des calculs de composition mixte. Nous avons conclu que la composition chimique des calculs biliaires chez les patients de la région de Béni-Mellal au Maroc est semblable à celle des patients de pays occidentaux. La taille des calculs biliaires variait de 4 mm à 2 cm (**Figure 48**).

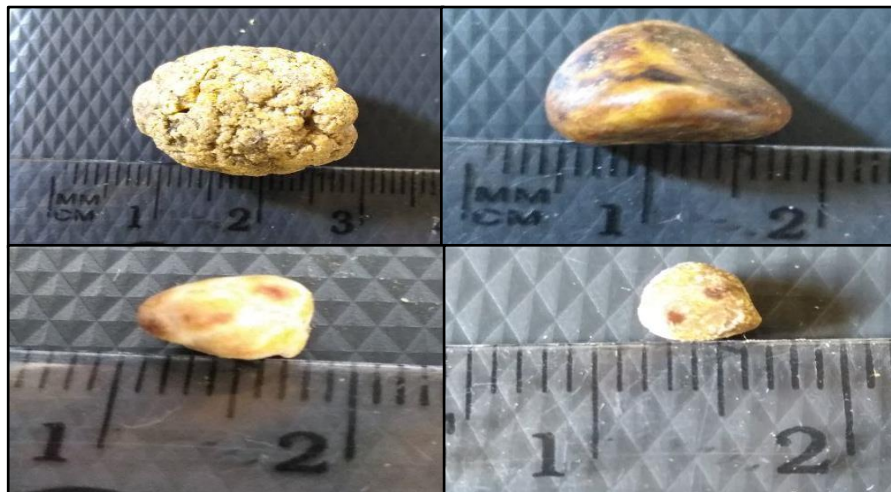


Figure 48 : Ordre de grandeur des calculs biliaires de la présente étude.

Les différents facteurs de risque de calculs biliaires chez les patients ayant des calculs de cholestérol ont été analysés. Différentes informations ont été enregistrées : caractéristiques épidémiologiques (genre, âge, zone de résidence). La présente étude montre que la lithiase cholestérolique est plus souvent rencontrée à un âge avancé, et dominante chez les femmes que les hommes. Ce qui rejoint les résultats obtenus dans les série de Driss Erguibi et al au Maroc [Erguibi et al., 2020], et Solonirina Davidà Rakotomena et al [Davidà R et al., 2019]. La prédominance féminine signifie que les femmes dans la région de Beni Mellal sont moins d'activité par rapport aux hommes, en plus il'y a manqué du sport ce qui conduit au surpoids, et par conséquence l'augmentation du cholestérol dans le corps.

Nous montrons également que la prévalence de la lithiase biliaire augment avec le vieillissement de la population ; probablement en raison de la diminution de l'efficacité des contractions de la vésicule.

Des corrélations significatives ont été notées, positives entre la présence des calculs principalement composé de cholestérol, bilirubinate de calcium, carbonate de calcium et phosphate de calcium et la nature d'alimentation la plus utilisé dans la région de Béni Mellal tel que, œufs, produits laitiers etc. Cette recherche montre également que la consommation des produits riches en cholestérol est fréquente. Ce type de nutrition serait responsable de la prépondérance du calcul de cholestérol observée dans la région de Béni Mellal.

3.2.2.1 Analyse par Microscope Electronique à Balayage (MEB)

3.2.2.1.1 Classification par morphologie

La morphologie et les agrégations de microcristaux organiques en calculs biliaires humains provenant de la région de Béni-Mellal au Maroc, telles qu'enregistrées par microscope électronique à balayage (MEB), sont présentées dans Figure 49.

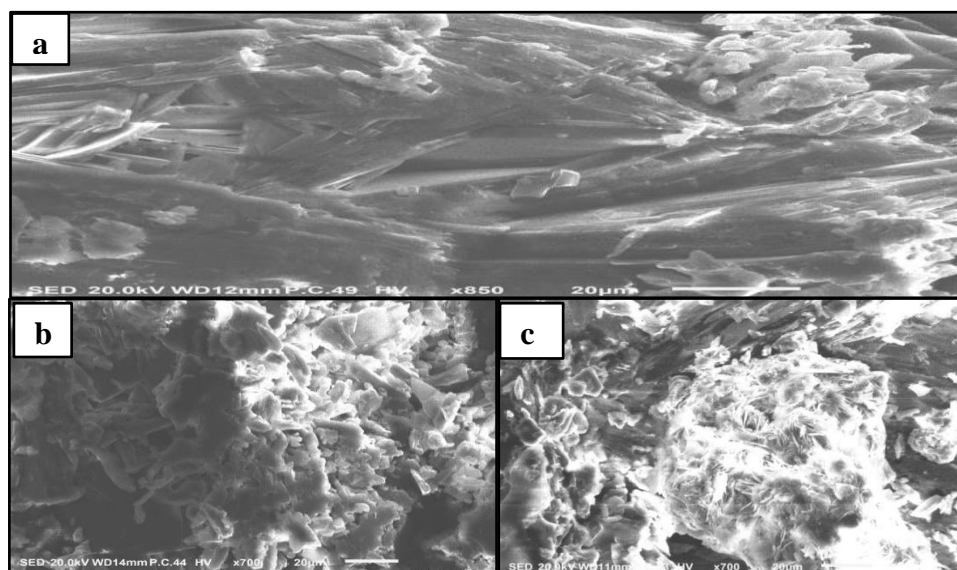


Figure 49 : Micrographies par MEB des calculs biliaires humains de la présente étude ((a) Calcul biliaire de cholestérol pur ; (b et c) Calcul biliaire de cholestérol mixte.

L'échantillon (a) présente un calcul de cholestérol pur. On remarque qu'il contient des cristaux en forme de plaque et de lamelle (**Figure 49**). On a constaté que les cristaux en forme de plaques étaient en grande quantité comparativement aux cristaux de type lamelle.

Les calculs biliaires de cholestérol mixte (**b et c**) se composent de cristaux en plateaux ainsi que de cristaux en forme d'aiguilles. Les calculs biliaires de cholestérol mixte (**b et c**) présentant des particules de cholestérol en forme de lamelles principalement distribuées avec des particules de bilirubinate de calcium dispersées.

La raison de la formation de différentes morphologies de calculs biliaires n'est pas encore claire. Le MEB a révélé que les calculs de cholestérol étaient principalement composés de plaques ou de lamelles. Anca Peter et al [Peter, A et al., 2020] ont rapporté que les cristaux de morphologie plate sont la phase majeure attribuée par le cholestérol monohydraté, ainsi que la morphologie en forme de plaque et d'aiguille correspondent respectivement au cholestérol monohydrate et de cholestérol à l'anhydrate. Une morphologie similaire a été observée dans l'échantillon (**a**) (**Figure 49**). Alors que, selon Ramya et al [Ramya J. R et al., 2017], les calculs de cholestérol possèdent une structure en couches qui s'est construite pas à pas autour du petit centre [Ramya J. R et al., 2017 ; Qiao T., MA et al., 2013].

Les résultats de l'analyse MEB indiquent que les calculs biliaires apparaissent dans une grande variété de formes, de tailles et de couleurs (**Figure 50**). La forme macroscopique du calcul biliaire tel que reçu était différente pour chaque échantillon, variant d'une forme ovale ou multi-lobulaire à une forme polygonale et présentaient une texture extérieure variée, lisse, poreuse, rugueuse ou pointillée. Nous avons classé le calcul biliaire même sur la base de leur forme. Les calculs biliaires de cholestérol ont été essentiellement observés comme ovale et rond, tandis que les calculs mixtes n'étaient que de forme ovale et irrégulière.

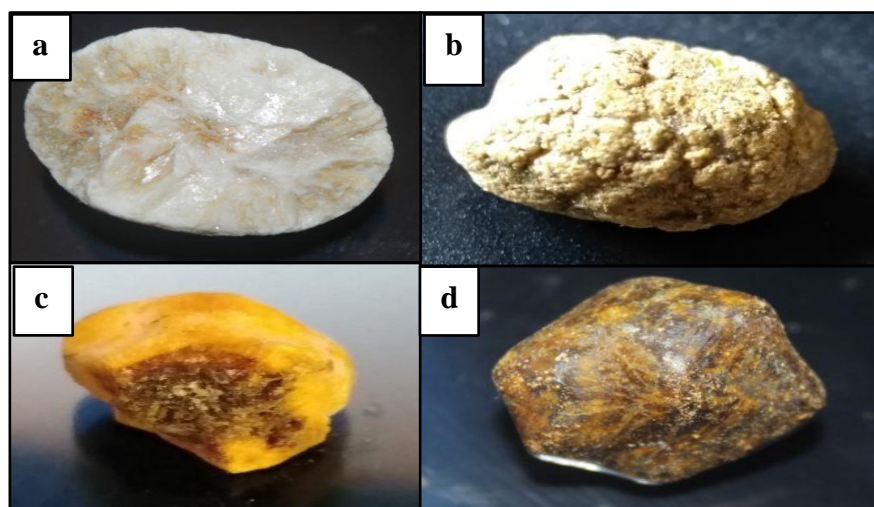


Figure 50 : (a) Calculs de cholestérol pur ; (b, c et d) Calculs de cholestérol mixtes.

Tableau 7 : Variations morphologiques, histologiques et élémentaires des calculs biliaires [Biehler-Gomez L et al., 2019].

Macroscopique	Variation	Éléments communs	Éléments rares	Variation microscopique
Forme	Ronde/ovale Multilobulaire Polyédrique	Carbone Oxygène Calcium	Chlore Potassium Silicium	Rayonnant Concentrique Cristallins
Texture	Lisse Poreux Rugueux En pointillés	Phosphore Soufre Sodium	Cuivre Fer Cobalt	Amorphe
Couleur	Gris Teintes de blanc Jaune Marron Noir Vert	Magnésium	Platine Etain Iode Chrome	

Sur la base des caractéristiques spécifiques indiquées dans le tableau 8, il a été possible de classer chaque calcul biliaires en trois catégories : le cholestérol (**figure 50**), calculs mixtes (**figure 50**) et de les classer dans chaque groupe conformément à Biehler-Gomez [Biehler-Gomez L et al., 2019]. En effet, un motif radial est spécifique aux calculs de cholestérol.

Les calculs biliaires de cholestérol étaient comparativement plus gros que les autres types de calculs biliaires. La surface extérieure des calculs biliaires de cholestérol pur a une surface extérieure blanche, ronde et lisse, tandis que les calculs biliaires de cholestérol composite ont une surface extérieure morcelée ou rugueuse. Les calculs biliaires mixtes ont une surface lisse ou rugueuse.

Tableau 8 : Classification des calculs biliaires d'après Biehler-Gomez et al [Biehler-Gomez L et al., 2019].

Calculs de cholestérol pur	Structure radiale du centre vers la périphérie avec pigment au centre ($< 1/3$ du diamètre de la surface de coupe)
Calculs biliaires mixte	Deux couches distinctes : centre du cholestérol entouré de pigment (couche externe > 1 mm)

3.2.2.1.2 Classification par composition

L'analyse MEB a révélé la présence de nombreux éléments chimiques non spécifiques, dont le carbone, l'oxygène, le calcium et le phosphore en raison des propriétés organiques et calcifiées du matériau. Les calculs biliaires contenaient également du soufre, du sodium et du magnésium, et parfois des traces de chlorure, de potassium, de fluor, de nickel, de mercure, de plomb, de fer, de manganèse, de silicium, de zinc, de cuivre, d'argent, d'aluminium, de cobalt, d'étain, de platine, d'iode et de chrome (**tableau 9**).

Tableau 9 : Eléments présents dans les calculs biliaires de présent travail.

Echantillons	Les éléments chimiques (%)
CB1	C (87,84%); H (traces); O (12,01%); Cl (0,02%); K (0,09%); Ca (0,04%)
CB2	C (90,33%); H (traces); O (9,29%); Cl (0,07%); K (0,14%); Ca (0,04%); Na (0,05%); Mg (0,08%)
CB3	C (85,82%) ; H (traces) ; O (12,07%) ; Cl (0,2%) ; K (0,05%) ; Na (0,1%) ; Ni (0,1%) ; Hg (0,52%) ; Pb (0,50%) ; Fe (0,64%)
CB4	C (97,18%); H (traces); O (2,5%); Cl (0,01%); K (0,09%); S (0,07%); F (0,07%); Na (0,04%); Mg (0,04%)
CB5	C (84,74%) ; H (traces) ; O (13,4%) ; K (0,02%) ; Ca (0,04%) ; Ni (0,13) ; Hg (0,32%) ; Pb (0,77%) ; Fe (0,12%) ; P (0, 2%) ; Mn (0,26%)
CB6	C (80, 69%); H (traces); O (18, 35%); Ca (0, 96%)
CB7	C (87,6%) ; H (traces) ; O (11,6%) ; Cl (0,15%) ; K (0,01%) ; Ca (0,13%) ; Pb (0,01%) ; P (0,08%) ; Si (0,03%) ; Zn (0,2) ; Cu (0,18%) ; Ag (0,01%)
CB8	C (85,76%); H (traces); O (13,56%); K (0,01%); Ca (0,16%); S (0,03%); F (0,13%); Na (0,04%); Mg (0,11); Pb (0,14%); P (0,06%)
CB9	C (88,9%); H (traces); O (9,13%); K (0,33%); Ca (0,01%); Na (0,22%); Fe (0,08); Mn (0,11%); Al (0,56%); Co (0,16%); Sn (0,5%)
CB10	C (90, 84%); H (traces); O (9, 06%); Ca (0, 01%); Mg (0, 09%)
CB11	C (88, 9%); H (traces); O (11, 02%); Ca (0, 03%); Mg (0, 05%)
CB12	C (88,17%); H (traces); O (8,63%); S (0,29%); Ni (0,32%); Hg (1,26%); Al (0,32); Co (0,1%); Pt (0,91%)
CB13	C (92,53%) ; H (traces) ; O (5,31%) ; Na (0,1%) ; Mg (0,26) ; Ni (0,54%) ; Fe (0,2%) ; Cu (0,65%) ; Al (0,08%) ; I (0,33%)
CB14	C (89,27%); H (traces); O (9,93%); Cl (0,06%); K (0,07%); Ca (0,12%); F (0,2%); Na (0,05%); Mg (0,06%); P (0,05%); Al (0,14%); Co (0,01%); Pt (0,04%)
CB15	C (84,76%); H (traces); O (14,01%); K (0,01%); Ca (0,2%); S (0,01%); Na (0,01%); Mg (1)
CB16	C (87,93%); H (traces); O (9,77%); Cl (0,03%); Ca (0,03%); Mg (0,03%); Hg (0,86%); Pb (1,03%); I (0,32%)
CB17	C (86,92%); H (traces); O (11,17%); K (0,03%); Ca (0,12%); F (0,82%); Na (0,05%); Fe (0,14%); Zn (0,13%); Al (0,62%)
CB18	C (85,93%); H (traces); O (11,77%); Cl (0,02%); Ca (0,43%); Mg (0,01%); Hg (0,53%); Pb (1,31%)
CB19	C (90,09%); H (traces); O (9,45%); K (0,03%); Ca (0,2%); Na (0,23%)
CB20	C (88,65%); H (traces); O (9,86%); Cl (0,2%); Ca (0,09%); Na (0,36%); Al (0,17%); Co (0,49%); Cr (0,18%)

Les éléments : Ca, K, Mg, Na, P et S ont présenté des concentrations plus élevées dans les calculs de la présente étude, sauf pour le S dans les calculs de cholestérol pur et mixte et pour la Mg et le P dans les calculs de cholestérol mixte. Toutefois, les différences entre les pourcentages des différents éléments n'étaient pas statistiquement significatives.

La comparaison des valeurs normalisées des oligo-éléments sélectionnés a indiqué que l'Ag, le Co et le Sr étaient enrichis dans les calculs de cholestérol pur et mixte. En outre, Zn, Cd et Pb ont été enrichis dans les calculs composites de cholestérol, bien que ces éléments aient présenté une faible variation.

Les calculs biliaires (calculs de cholestérol purs et mixtes) de ces patients avaient tendance à présenter des concentrations de Mn, Fe, Cu, Zn et Pb (Cr, Rb et Sr dans certains cas), ainsi que de S dans un seul cas du présent travail, de concentration n'étaient pas nécessairement les plus élevées.

Cependant, la consommation de produits riches en phytate et en cellulose (contenant généralement des concentrations élevées de Mg) augmente l'apport en Mg, ce qui compense souvent la diminution de l'absorption gastro-intestinale.

Les effets des composants alimentaires tels que le phytate sur l'absorption du Mg ne sont probablement d'une importance capitale qu'en cas de faible consommation de magnésium. Il n'y a pas de preuve cohérente que de modestes augmentations de l'apport en Ca affectent l'équilibre en Mg [Philipp Schuchardt, J et al., 2017 ; Dai, Q et al., 2016 ; Palacios, C et al., 2013]. En revanche, des apports élevés en zinc (142 mg/jour) diminuent l'absorption de Mg et contribuent à un équilibre négatif [Palacios C et al., 2013].

Parmi les éléments détectés, le calcium a la concentration moyenne la plus élevée, ce qui est dû à la présence de bilirubinate de calcium dans les calculs biliaires pigmentaires. Les ions Ca jouent un rôle essentiel dans de nombreux processus métaboliques [Rautray T. R. et al., 2007]. Environ la moitié des pertes basales de Fe proviennent du sang, principalement dans le tractus gastro-intestinal. L'absorption par le tractus gastro-intestinal est le principal mécanisme homéostatique du fer [Rautray T. R. et al., 2007].

On a constaté que le calcium était le principal constituant non organique de tous les calculs biliaires du cholestérol. Il a été rapporté que le calcium se comportait comme un nid pour la formation de calculs biliaires [Jaswa B. B. S et al., 2019 ; Athanasiadou D et al., 2013]. Il est évident que la teneur en Ca est influencée par le type d'aliments et de boissons consommés par les patients, y compris les produits laitiers, les œufs, le thé et l'eau dure [Abboud, I. A et al., 2008].

Les traces de Sr pourraient également être liées au Ca, en raison de la même valence et de rayons ioniques proches ainsi que d'un métabolisme similaire [Omer L. S et al., 2011]. Les sources de concentrations élevées de Cu endogène sont notamment les aliments conditionnés dans des batteries de cuisine en cuivre non revêtues, les conduites d'eau chaude, les comprimés contre les carences nutritionnelles et les contraceptifs [Ashish, B et al., 2013].

La concentration moyenne de Cu dans les calculs biliaires dans autres études [Rautray, T. R et al., 2007 ; Khan M et al., 2017] est environ trois fois plus élevée que celle des calculs biliaires dans la présente étude, tandis que des concentrations plus élevées de Fe ont été trouvées par Ashok [Ashok M et al., 2003] et Alatisse [Alatisse, O. I et al., 2010] dans des matériaux provenant en Inde et au Nigeria. Une quantité plus élevée de Cu dans les calculs biliaires pigmentaires peut être due à la présence de bilirubinate de cuivre qui donne aux calculs biliaires pigmentaires la couleur noire [Jaswal B. B. S et al., 2015 ; Pathak, A. K et al., 2012].

Le transport du Cu du foie vers la bile est la principale voie d'excrétion du cuivre endogène. Le cuivre d'origine biliaire et le cuivre alimentaire non absorbé sont éliminés de l'organisme par les selles. L'absorption et la rétention du Cu varient en fonction de l'apport alimentaire et du statut [Silva M. A et al., 2005 ; Acalovschi M et al., 2003].

L'ingestion de boissons à forte concentration en Cu peut provoquer des symptômes gastro-intestinaux aigus, tels que des douleurs épigastriques, des nausées, des vomissements et des diarrhées. Cependant, les concentrations de Cu auxquelles ces symptômes apparaissent et l'ampleur des réponses observées ne sont pas claires [Rautray T. R et al., 2007].

Pour cette raison, le seuil des symptômes gastro-intestinaux du Cu dans les boissons n'a pas été établi avec précision dans des études prospectives contrôlées. Le sulfate de cuivre (un composé soluble) et l'oxyde de cuivre (un composé insoluble) ont tous deux des effets comparables, ce qui implique que le Cu ionique présent dans l'estomac est responsable de l'induction de manifestations gastro-intestinales [Zhong L et al., 2015].

PAK [Pak M et al., 2016] et Kumar [Kumar M et al., 2006] ont suggéré qu'un régime alimentaire pauvre en Fe pourrait altérer le métabolisme de l'enzyme hépatique, ce qui augmente le cholestérol de la vésicule biliaire et favorise la formation de cristaux de cholestérol. En outre, les agrégats centraux de sels de calcium constituent des corps étrangers durs qui peuvent entraîner une ulcération de la muqueuse de la vésicule biliaire, une hémorragie microscopique et une inflammation. Ce processus de libération peut être une autre source de dépôt de Fe dans les calculs biliaires [Prasad P. C et al., 2015]. Notre étude a détecté une faible concentration de Zn dans les échantillons. Cependant, la moyenne mondiale de Zn dans les calculs biliaires était supérieure à la moyenne des échantillons européens. La présence de Zn dans les calculs biliaires pourrait s'expliquer par une simple coprécipitation avec le cholestérol [Jaswal B. B. S et al., 2015]. Le manganèse était également important dans les calculs biliaires étudiés, bien qu'il soit inférieur à la moyenne mondiale. Le manganèse forme un sel avec l'acide biliaire qui s'accumule lors de la cholélithiase [Athanasiadou D et al., 2013].

Il est évident que les calculs biliaires de cholestérol de la région de Béni Mellal examinés dans le cadre de la présente étude sont bien enrichis en métaux potentiellement toxiques (Pb, Ni), par rapport à la moyenne mondiale [Banger M et al., 2011 ; Chandran P et al., 2007 ; Rautray, T. R et al., 2006 ; Okumuşoğlu N. T et al., 2006]. Il est à noter que Ni et Pb étaient également concentrés dans des échantillons individuels provenant de la région de Béni Mellal-Khénifra au Maroc. Ainsi, les calculs biliaires de cette région sont pour la plupart riches en éléments toxiques. Cela peut être lié à d'éventuels problèmes d'alimentation toxique et de pollution de l'environnement. A ce stade, il convient de noter que, à l'exception du Pb, les éléments Ni (ainsi que le Zn) pourraient également être associés à la pollution atmosphérique [Godelitsas A et al., 2011]. Le plomb est connu pour être hépatotoxique et les sources de ce métal lourd nocif peuvent être naturelles, industrielles, ou même inattendues [Sipos P., 2003].

La concentration moyenne de Cr dans les calculs biliaires rapportée par Rautray et al [Rautray T. R. et al., 2007] est environ six fois plus élevée que celle des calculs biliaires rapportée par Ashok et al [Ashok M et al., 2003], alors qu'elle est environ dix fois plus élevée que celle du présent travail. La raison pour laquelle la quantité de Cr est moindre dans les calculs biliaires du présent travail n'est donc pas encore totalement comprise. L'analyse de phase des calculs biliaires chez des patients de la région de Béni-Mellal au Maroc a montré que le cholestérol était le composant majeur dans plus de 75% des cas et le carbonate de calcium.

3.2.2.1.3 Classification par la méthode de l'Analyse en Composantes Principales (ACP)

Le graphe 51 du score (graphe des échantillons) montre la répartition des échantillons selon les composantes PC1 et PC2, avec un taux d'information de 20% sur PC1. Elle permet la visualisation des projections des points correspondant aux 20 échantillons sur les deux premières composantes principales. On remarque qu'on peut répartir le graphe du score d'ACP dans le plan (PC1, PC2) en trois classes. D'après les résultats d'analyses de cet échantillon il a des caractéristiques des échantillons différents ce qui montre la sensibilité de cette méthode chimio-métriques par rapport aux autres méthodes utilisé dans le laboratoire d'analyse.

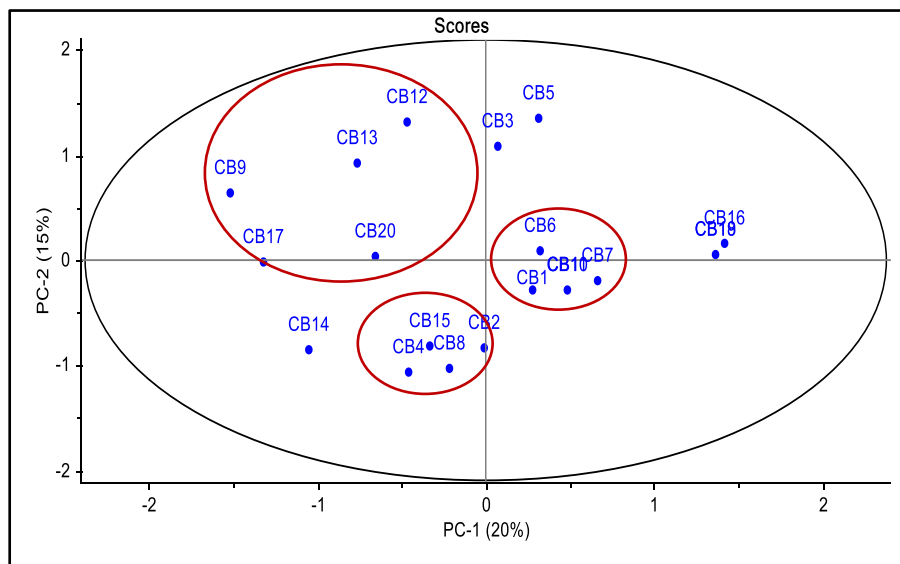


Figure 51 : Analyse en composantes principales sur 20 calculs biliaires. Projection des variables dans le plan des deux premier facteurs PC1 et PC2.

La lecture des données obtenues pour les calculs biliaries sur le cercle de corrélation de la figure 52 permet de voir clairement que la grande majorité des paramètres sont fortement corrélés négativement et ils sont portés par l'axe PC2. Cependant, on remarque une opposition des éléments Ca, Mg, Cl à tous les autres composants. L'axe PC1 est exprimé par les éléments qui sont Na, F, K, S, Ca, Mg, Cl. La majeure partie des éléments sont portés par l'axe PC2.

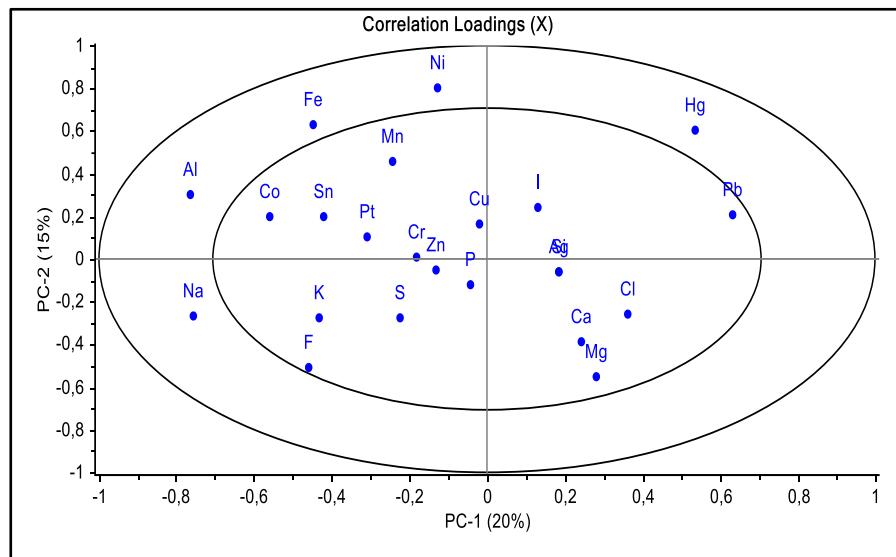


Figure 52 : Cercle de corrélation des différents éléments chimiques constituant les calculs biliaries étudiés par l'ACP.

L'ACP représentée sur la figure 53 montre le regroupement des différents types de calculs biliaries et leurs tendances en ce qui concerne les éléments corroborant les observations susmentionnées. La lecture des données obtenues pour les calculs biliaries sur la carte factorielle d'ACP de la figure 54 permet de voir clairement que la grande majorité des éléments chimiques sont fortement corrélés positivement et ils sont portés par l'axe PC2. Cependant, on remarque une forte corrélation entre CB16 et CB18 d'une part et la présence de Pb d'autre part. L'axe PC1 exprimé par trois éléments qui sont Mg, Ca et Cl. Ces derniers sont corrélés négativement entre CB1, CB7 et CB10. On voit une grande correspondance entre les divers éléments chimiques et les différents échantillons des calculs biliaries.

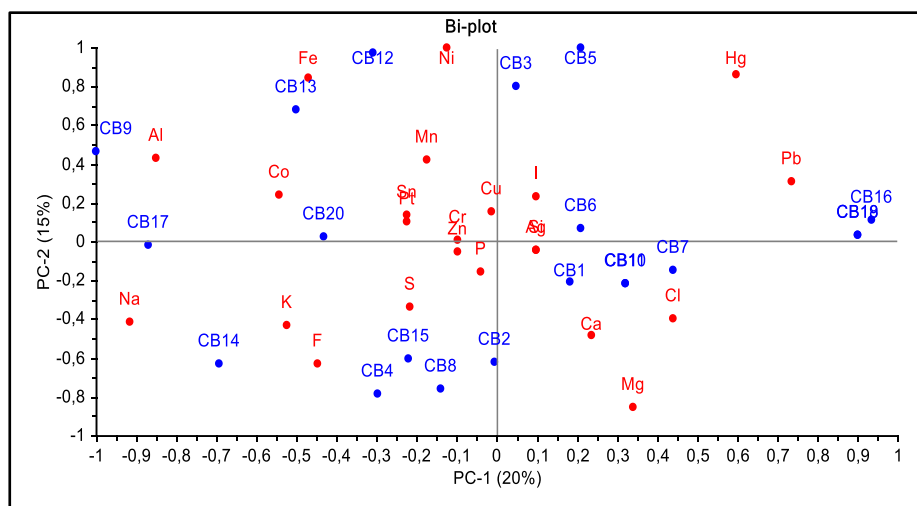


Figure 53 : Carte factorielle d'ACP dans le plan (PC1-PC2).

3.2.2.2 Analyse par Spectroscopie Infrarouge à Transformée Fourier (TFIR)

La spectroscopie infrarouge est l'une des techniques d'analyse les plus puissantes, qui offre la possibilité d'une identification chimique. L'un des avantages les plus importants de la spectroscopie infrarouge par rapport aux autres méthodes habituelles d'analyse structurale est qu'elle fournit rapidement des informations utiles sur la structure des molécules sans avoir recours à des méthodes d'évaluation fastidieuses [Kothai S et al., 2009]. La grande majorité des applications analytiques de la région infrarouge sont confinées à la portion limitée entre 500-4000 cm^{-1} .

En connaissant la composition des calculs de la vésicule biliaire obtenus des patients, les calculs ont été cristallisés dans le laboratoire de chimie et utilisés pour des études spectrales IRTF.

Les spectres TFIR ont été pris en utilisant la poudre des calculs biliaires obtenus des patients et des échantillons cristallisés. Nous avons rapporté une analyse chimique quantitative du cholestérol total, de la bilirubine, du calcium et du phosphate inorganique dans 20 calculs biliaires de Béni Mellal. Étendre cette analyse chimique des calculs biliaires en étudiant plus de cas et en analysant plus de constituants chimiques.

Les modèles de spectres TFIR obtenus pour les différents types de calcul biliaire sont donnés dans les figures 54 et 55. Les résultats ont révélé que le cholestérol était présent en forte concentration dans toutes les parties des calculs biliaires étudiés. Le bilirubinate de calcium, le carbonate de calcium et le phosphate de calcium sont les sels de calcium fréquemment identifiés dans les échantillons des calculs biliaires mixtes.

Le spectre TFIR d'un calcul biliaire de cholestérol pur ($C_{27}H_{46}O$) ainsi que leur structure chimique sont illustrés à la figure 54 (C1). En outre, l'analyse chimique des calculs biliaires de cholestérol mixtes (Figure 55 (C2, C3, C4, C5 et C6), qui présentaient une morphologie hétérogène en coupe transversale, a révélé la présence de bilirubinate de calcium, de carbonate de calcium et de phosphate de calcium. Les régions spectrales TFIR entre 2800-3000 et/ou 1500-1700 cm^{-1} permettaient de classer tous les types de calculs biliaires. L'attribution des bandes des signaux spectraux TFIR pour différents échantillons de calculs biliaires est comparée à d'autres rapports [Cheng C. L et al., 2016 ; Qiao T et al., 2013 ; Sikkandar S et al., 2011].

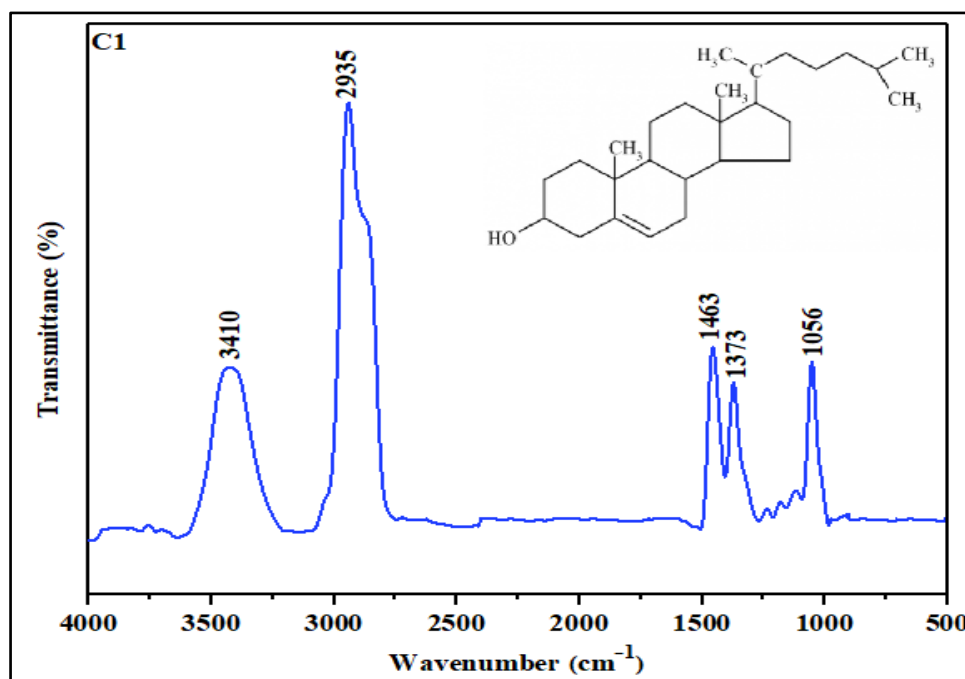


Figure 54 : Spectre infrarouge à transformée de Fourier (TFIR) d'un calcul biliaire de cholestérol pur.

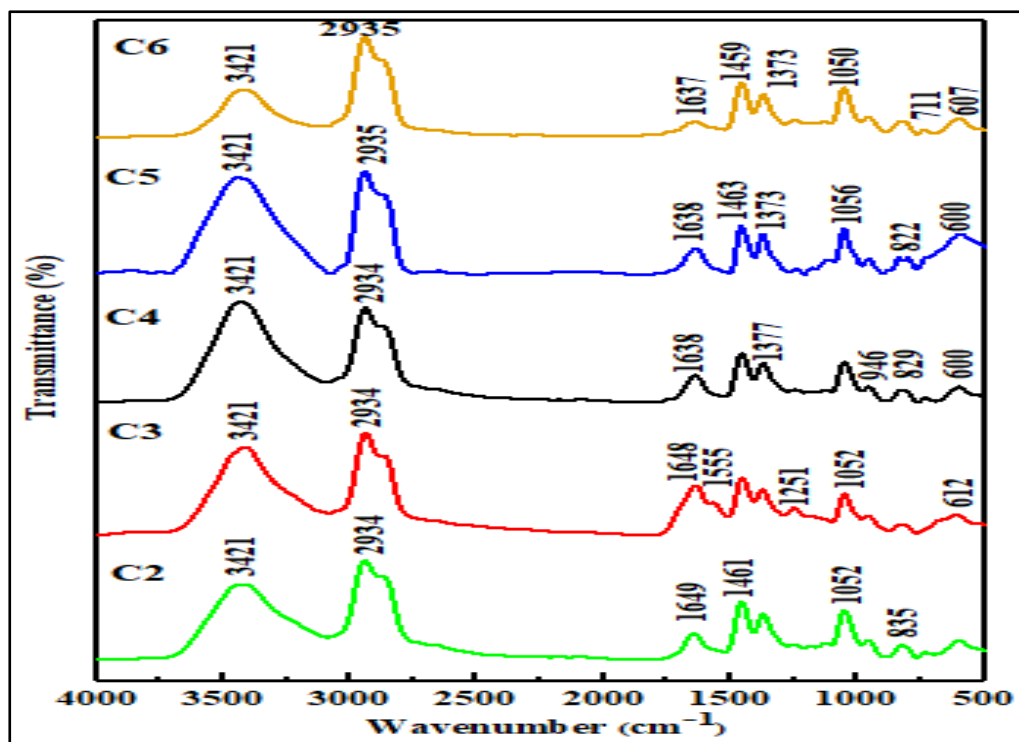


Figure 55 : Spectres infrarouges à transformée de Fourier (TFIR) des calculs biliaries de cholestérol mixtes (cholestérol, bilirubinate de calcium, carbonate de calcium et phosphate de calcium).

Les compositions chimiques des différents types de calculs biliaries révélées par la TFIR sont présentées dans le tableau 10. Selon l'analyse, la majorité des calculs biliaries (n = 19) (95%) étaient composés de composés chimiques multiples, alors que seulement 1 (5%) des calculs biliaries étaient composés d'un seul composé. Les données du tableau 10 ont révélé que la substance la plus répandue était le cholestérol, qui a été détecté dans tous les échantillons de calculs biliaries étudiés. Ainsi, le calcul biliaire du cholestérol représente le type de calcul biliaire dominant. Notre observation est en accord avec celles observées dans l'étude de Shareef [Shareef K. M et al., 2015], Clemens Schafmayer [Schafmayer, C et al., 2006] et Angwafa [Angwafa F. F et al., 2004].

Le tableau 10 montre la comparaison entre les pics d'absorption TFIR des calculs biliaries de cholestérol dans cette étude et ceux rapportés dans les études précédentes. Les caractéristiques des bandes et les emplacements clés des bandes (**Tableau 10**) pour les composants des calculs biliaries dans la présente étude sont en accord avec ceux rapportés dans les autres études [Shareef K. M et al., 2015 ; Kothai S et al., 2009 ; Jaswal B. B et al., 2016 ; Channa N. A et al., 2007 ; Kleiner O et al., 2002 ; Singh, V. K et al., 2020].

Tableau 10 : Bandes d'absorption IRTF (cm^{-1}) caractéristiques des 3 principaux constituants du calcul biliaire.

	Laloum et al., 1998	Kleiner O et al., 2002	Gang L et al., 2002	Suo T et al., 2012	Byeong Jo. H et al., 2018	Notre étude
Cholestérol	1467, 1378, 1058	3398, 2933, 2866, 1463, 1376, 1056	3408, 2934, 2867, 1446, 1367, 1057	3395, 2930, 2867, 1464, 1374, 1056	3410, 2934, 2853, 1458, 1373, 1055	3421, 3410, 2935, 2934, 1463, 1461, 1459, 1377, 1373, 1056, 1052, 1050
Bilirubinate de calcium	1666, 1628, 1571, 1251	1661, 1640, 1575	3402, 1696, 1663, 1620, 1572, 1448, 1250, 700	1700, 1662, 1628, 1574, 1460, 1253, 1054	3398, 1663, 1624, 1566, 1447, 1251, 699	1649, 1648, 1638, 1637, 1555, 1251
Carbonate de calcium	1480, 1419, 875, 855	1464, 875		large bande à 1300-1500, 875, 711	1464, 1458, 1420, 872, 855	946, 835, 829, 822, 711
Phosphate de calcium	-	-	-	-	-	600, 607, 612

Les principaux composants représentatifs des différents types de calculs biliaires prélevés sur 20 patients de Béni Mellal au Maroc sont le cholestérol et la bilirubine. D'autres composés ont été trouvés dans les calculs biliaires, notamment le carbonate de calcium, phosphate de calcium et le bilirubinate de calcium.

Les pics d'absorption de 3421, 3410, 2935, 2934, 1463, 1461, 1459, 1377, 1373, 1056, 1052 et 1050 cm^{-1} ont été pris comme référence pour le cholestérol, tandis que les pics d'absorption de 1649, 1648, 1638, 1637, 1555 et 1251 cm^{-1} ont été utilisés pour détecter le bilirubinate de calcium. La présence des trois petits pics à 600, 607 et 612 cm^{-1} a été utilisée pour identifier le phosphate de calcium [Weerakoon H et al., 2015 ; Qiao T et al., 2013]. Les pics d'absorption de 946, 835, 829, 822 et 711 cm^{-1} ont été utilisés pour détecter le carbonate de calcium.

Le spectre TFIR d'un calcul biliaire de cholestérol était composé d'une bande d'absorption à étirement asymétrique CH_2 à 2935 cm^{-1} , d'une bande d'absorption à flexion asymétrique CH_2 à 1459 cm^{-1} , d'une bande d'absorption à flexion symétrique CH_2 à 1373 cm^{-1} , d'une bande centrage CH_3 à 1373 cm^{-1} et d'une bande d'absorption à étirement C-C à 1056 cm^{-1} [Kothai S et al., 2009 ; Kleiner O et al., 2002 ; Byeong Jo H et al., 2018].

Une large bande d'absorption en mode d'étirement OH a été centrée à 3410 cm^{-1} . La bande à 1648 cm^{-1} était un artefact représentant l'absorption de CO_2 par l'air. Le cholestérol dans les pierres de composition mixte était caractérisé par les bandes entre $2800\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ dues aux vibrations d'étirement asymétriques et symétriques des groupes CH_2 et CH_3 [Channa, N. A et al., 2007]. En outre, les bandes dominantes à 1052 et 835 cm^{-1} indiquent que la teneur en cholestérol et en carbonate de calcium dans les calculs mixtes est très élevée chez les patients de la présente étude. La bande à 835 cm^{-1} est due à la vibration de flexion du CO_3^{2-} dans le carbonate de calcium.

L'analyse spectrale TFIR des calculs biliaires des patients étudiés a montré la présence d'une grande quantité de cholestérol. En effet, la précipitation de l'excès de cholestérol dans la bile sous forme de cristaux solides est une condition préalable à la formation de calculs biliaires de cholestérol [Di Ciaula A et al., 2018 ; Wang D. Q. H et al., 2017].

Les calculs de cholestérol mixtes présentaient des bandes caractéristiques dans la région comprise entre 1500 et 1700 cm^{-1} en raison des vibrations d'étirement de $\text{C}=\text{C}$, CO et C-N à 1570 , 1626 , 1661 et 1700 provenant des sels de bilirubinate [Kleiner O et al., 2002].

L'analyse TFIR a été un outil de choix pour classer un grand nombre d'échantillons de calculs biliaires. Les études spectrales TFIR sur les calculs biliaires caractérisent la composition présente dans les différents types de calculs biliaires. Les calculs mixtes des adultes étaient riches en cholestérol et présentaient des quantités variables de bilirubine.

L'analyse des calculs biliaires basée sur la TFIR a révélé que les principales composantes des calculs biliaires étudiées étaient le cholestérol, le bilirubinate de calcium et le carbonate de calcium. Notre étude suggère que le cholestérol et la bilirubine sont les principaux facteurs de risque des maladies des calculs biliaires. L'étude de la maladie du calcul biliaire contribuera certainement à comprendre sa pathogénie et donc sa prévention.

L'interprétation du spectre TFIR d'un calcul biliaire doit recevoir toute l'attention nécessaire, et des recherches supplémentaires utilisant diverses techniques analytiques sont justifiées pour comprendre les constituants des calculs biliaires et l'étiologie de leur formation.

Cette étude a montré que les calculs biliaires riches en cholestérol contenaient des niveaux de métaux plus faibles qui augmentaient avec la quantité croissante de phases métalliques telles que le bilirubinate, le carbonate et le phosphate, alors que le cholestérol est dépourvu de métaux. Compte tenu du contrôle de l'accumulation des métaux par phase, les calculs biliaires riches en cholestérol ne conviennent pas comme indicateurs environnementaux. Au contraire, les calculs mixtes présentent les concentrations les plus élevées de divers éléments, car elles sont principalement formées de bilirubinate et de phosphates et carbonates mineurs, ce qui en fait les meilleurs candidats pour les approximations environnementales.

3.2.2.3 Analyse par Diffraction de Rayons X (DRX)

La technique de diffraction des rayons X sur poudre a été utilisée pour confirmer la phase cristalline dans les calculs biliaires de cholestérol pur et de cholestérol mixtes. Pour le calcul biliaire (figure 56 (C1)), un fort pic de réflexion du cholestérol cristallisé a été observé à $16,88\ 2\theta$ (5,24 d-spacing [Å]) ; il présentait également un chevauchement important des pics comme le montre la figure 56.

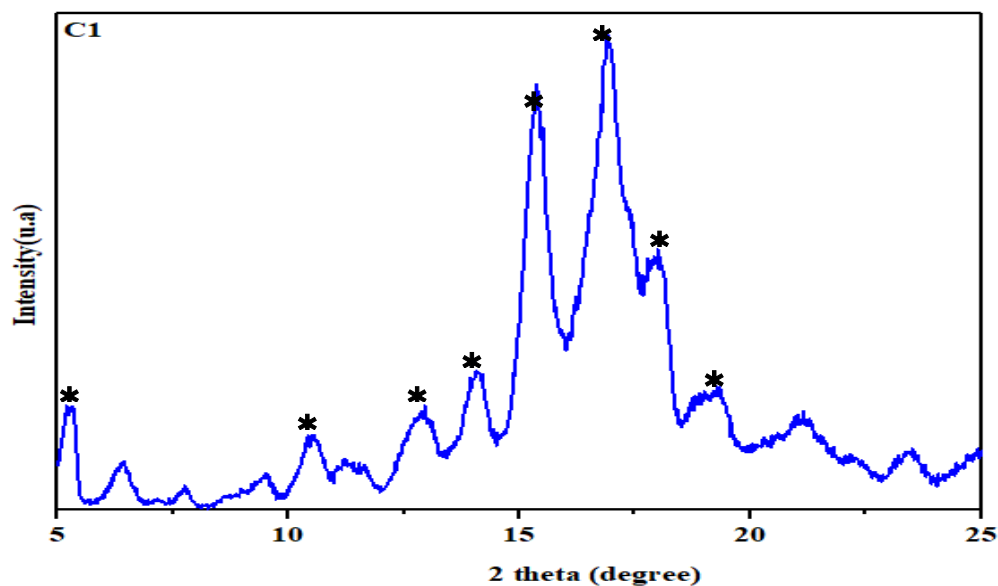


Figure 56 : Diffraction des rayons X d'un échantillon de calcul biliaire de cholestérol pur (* cholestérol).

Les diagrammes de diffraction, y compris les valeurs de l'espace d , ont été comparés aux diagrammes standard du cholestérol dans les données du JCPDS (n° 00-007-0742), comme le montre la figure 57 et le tableau 11.

Aucun pic n'a été observé pour le bilirubinate de calcium. Le cristal de cholestérol du calcul biliaire rapporté dans le JCPDS présentait un système cristallin triclinique, et les paramètres de la cellule unitaire ont été estimés comme suit : $a = 14,100 \text{ \AA}$, $b = 33,750 \text{ \AA}$, $c = 10,460 \text{ \AA}$, $\alpha = 94,60^\circ$, $\beta = 90,00^\circ$, et $\gamma = 95,72^\circ$.

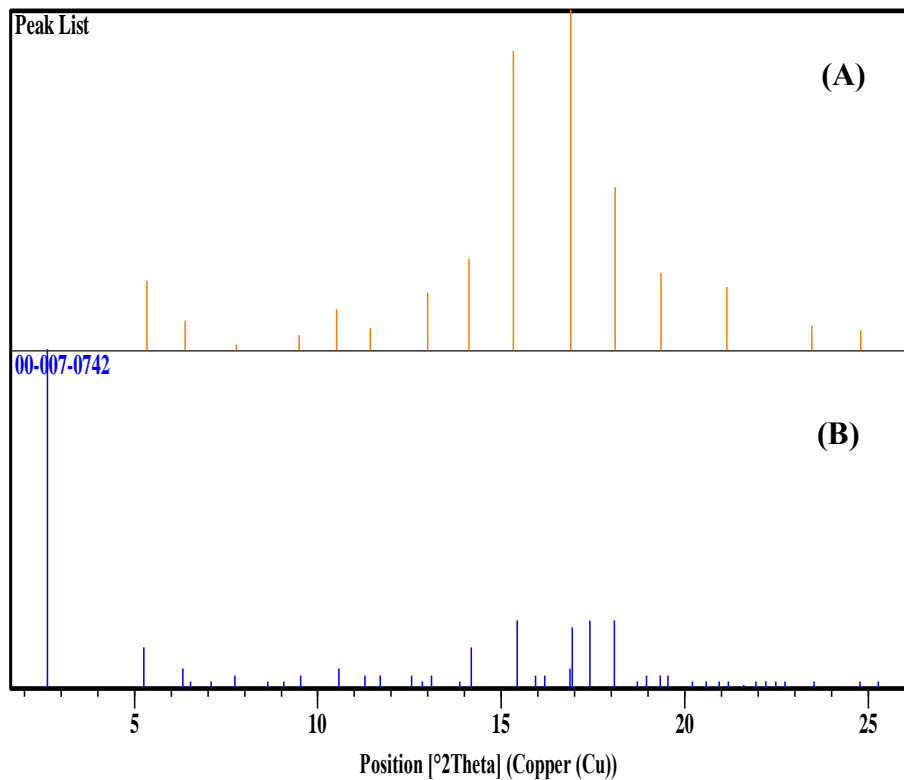


Figure 57 : (A) spectre de cholestérol pur ; (B) spectre de cholestérol de référence.

Tableau 11 : Comparaison des données de diffraction des rayons X pour l'échantillon de calcul biliaire de cholestérol pur (C1) avec le cholestérol standard (JCPDS).

Cholestérol standard (JCPDS)				Échantillon de calcul biliaire				
h	k	l	d-spacing [Å]	Pos. [°2Th.]	Rel. Int. [%]	d-spacing [Å]	Pos. [°2Th.]	Rel. Int. [%]
0	1	0	33,60000	2,627	100,0	16,52991	5,3419	20,33
0	2	0	16,80000	5,256	12,0	13,81918	6,3908	8,43
1	0	0	13,97000	6,322	6,0	11,34698	7,7851	1,60
1	-1	0	13,51000	6,537	2,0	9,30982	9,4922	4,30
1	1	0	12,46000	7,089	2,0	8,41314	10,5066	12,11
1	-2	0	11,43000	7,729	4,0	7,73487	11,4309	6,58
1	2	0	10,23000	8,637	2,0	6,81327	12,9833	16,67
0	1	1	9,74000	9,072	2,0	6,26357	14,1283	26,97
1	-3	0	9,28000	9,523	4,0	5,77714	15,3248	87,85
0	4	0	8,36000	10,574	6,0	5,24689	16,8843	100,00
1	-2	1	7,83000	11,292	4,0	4,89927	18,0920	47,84
1	-4	0	7,56000	11,696	4,0	4,58386	19,3484	22,67
2	0	0	7,04000	12,563	4,0	4,19909	21,1409	18,42
1	4	0	6,88000	12,857	2,0	3,78836	23,4639	7,18
2	1	0	6,75000	13,106	4,0	3,58707	24,8010	5,61

Les résultats de l'analyse par diffraction par rayons X obtenus pour les calculs biliaires de cholestérol mixtes sont donnés dans la figure 58. Les résultats de l'analyse par diffractions de rayons X, montrant les lignes de réflexion intenses du cholestérol par rapport aux autres éléments détectées dans les calculs biliaires de la présente étude.

Les valeurs d'espacement d obtenues en DRX pour les calculs biliaires mixtes (**Figure 58**) confirment encore la présence de cholestérol, de carbonate de calcium et de phosphate de calcium sous forme cristalline.

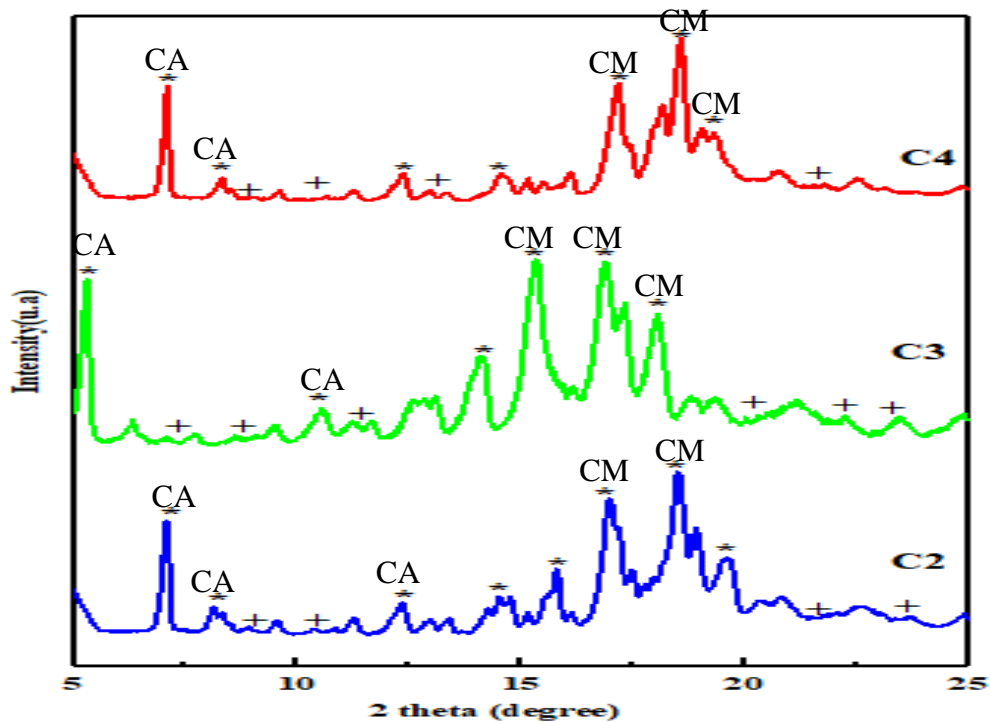


Figure 58 : Spectres DRX de différents types de calculs biliaires (* Cholestérol (CM : Cholestérol monohydraté ; CA : Cholestérol anhydre) + Sels de calcium (bilirubinate de calcium, carbonate de calcium et phosphate de calcium)).

Dans la présente étude, l'analyse par DRX a également été utilisée pour déterminer la composition chimique des calculs biliaires, car il s'agit d'une méthode précise pour identifier la caractérisation chimique et minéralogique des calculs biliaires [Almarshad H. A et al., 2018 ; Parviainen A et al., 2016]. Les résultats de la DRX ont confirmé la présence de tous les autres composés chimiques identifiés par FTIR. En outre, l'analyse par diffraction à rayons X, ainsi que la spectroscopie infrarouge des calculs biliaires, sont d'une importance fondamentale pour une analyse précise des calculs [Cariati A., 2015].

Les calculs biliaires recueillis ont été identifiés par analyse DRX comme étant des calculs biliaires mixtes et des calculs biliaires de cholestérol pur (figures 56 et 58). L'analyse des calculs biliaires basée sur DRX a révélé que le cholestérol, seul ou en combinaison avec sels de calcium, est le composant le plus prédominant des calculs biliaires de la présente étude.

L'analyse DRX de calcul du cholestérol pur (**Figure 56 (C1)**) a donné des valeurs d'espacement d (Tableau 11) compatibles avec celles des valeurs d obtenues pour le cholestérol standard. Ce calcul (**Figure 56 (C1)**) a montré des pics intenses à $5,34^\circ$; $14,12^\circ$; $15,32^\circ$; $16,88^\circ$; $18,09^\circ$; $19,34^\circ$ et $21,14^\circ$, ce qui confirme la présence de cholestérol. La structure en plaques du calcul biliaire de cholestérol pur a été confirmée par la technique DRX. En plus du cholestérol, on a également remarqué la présence de bilirubine et de sels de calcium dans les calculs biliaires à cholestérol mixte (**Figure 58**), ce qui indique un processus de formation différent pour les différents types de calculs biliaires. La présence de cholestérol insoluble entraîne une augmentation du taux de cholestérol dans la bile. En général, les calculs biliaires se sont formés en raison de la sursaturation de la bilirubine non conjuguée et d'autres sels biliaires [Venneman N. G et al., 2010].

La DRX montre que le cholestérol est la principale phase du calcul biliaire mixte, suivies par les sels de calcium (**Figure 58**). La teneur en calcium était significativement plus élevée dans les calculs biliaires de cholestérol mixtes et était principalement sous forme de bilirubinate de calcium. D'autres formes de calcium telles que le carbonate ou le phosphate de calcium, qui était principalement distribué dans le noyau et la surface, ont également été observées [Almarshad H. A et al., 2018 ; Qiao T et al., 2013]. La composition exacte des calculs biliaires dépend de la présence de conditions locales spécifiques, chaque type de calcul biliaire ayant un profil de risque épidémiologique et génétique qui lui est associé. En fonction de ces conditions, on rencontre trois grands types de calculs biliaires : à prédominance de cholestérol, de composition mixte et de pigments, les calculs pigmentaires étant en outre caractérisés comme noires ou brunes [Parviainen A et al., 2016 ; Cavalu S et al., 2015 ; Chowdhury A. H et al., 2011].

Les résultats de l'analyse par diffractions de rayons X de différents types de calculs biliaires, montrant les lignes de réflexion intenses du cholestérol cristallisé à la fois sous forme anhydre et monohydraté. Outre ces lignes intenses, la ligne de réflexion caractéristique de la bilirubine/bilirubinate (bilirubinate de calcium, bilirubinate de cuivre et autres sels) peut être observée à $2\theta = 23^\circ$ avec différentes intensités par rapport à celles du cholestérol. Ces résultats montrent l'existence de certaines corrélations entre la phase de cristallisation du cholestérol et la composition en microéléments des calculs biliaires [Cavalu S et al., 2015 ; Kaur T et al., 2010 ; Lee S. K et al., 2010].

L'analyse par DRX confirme également que les calculs biliaires mixtes sont compatibles avec la formation du complexe de bilirubinate de calcium et la coexistence des formes anhydres et monohydrates du cholestérol (**Figure 58**), l'existence de ces deux formes de cholestérol conforme la nature cristalline des calculs biliaires mixtes, comme l'on déjà montré une autre étude [Bakthavatchalam M et al., 2019]. La forme cristalline exacte du cholestérol, qui précipite dans le noyau du calcul biliaire en formation et en croissance, n'est pas connue. Les résultats de l'analyse par DRX ont confirmé la présence de tous les autres composés chimiques identifiés par FTIR autres que le bilirubinate de calcium. Le bilirubinate de calcium n'a pas été détecté par XRD dans une étude précédente [Weerakoon H et al., 2015] et a été considéré comme un matériau amorphe. L'incapacité à détecter le bilirubinate de calcium peut être reconnue comme la principale raison de l'utilisation peu fréquente de DRX pour caractériser la composition chimique des calculs biliaires. Comme il s'agit de la toute première tentative d'analyse de la composition des calculs biliaires de la région de Béni Mellal, les conclusions de l'étude DRX sont des preuves à l'appui de l'analyse FTIR dans la présente étude.

Les résultats de la présente étude indiquent que les causes de l'étiopathogénèse des calculs biliaires dans notre population est probablement différent de celui de la population occidentale, où, les calculs biliaires pigmentaires est le plus prédominante [Cavalu S et al., 2015]. Cependant, on peut prévoir des facteurs étiologiques communs pour le développement des calculs biliaires dans d'autres études, où la majorité des calculs biliaires étaient mixtes ou pigmentaires [Weerakoon H et al., 2015 ; Pradhan S. B et al., 2009 ; Chandran P et al., 2007].

3.2.3 Conclusion

La caractérisation des calculs biliaires des patients, provenant de la région de Béni Mellal-Khénifra, à l'aide des techniques rapides et fiables tels que MEB, TFIR et DRX est avantageuse par rapport aux méthodes d'analyse chimique traditionnelles.

Le présent travail a montré que la phase cristalline la plus courante, dans les calculs biliaires des patients de la région étudiée, est le cholestérol. Il a été aussi conclu qu'il y a une forte corrélation entre les facteurs « âge » et « genre des patients » d'une part et la présence des calculs biliaires d'autre part.

Cependant, il est important de noter que le mode de vie, en particulier les habitudes alimentaires, ont une influence sur la présence de ces calculs. Il est recommandé d'éviter les aliments à forte teneur en cholestérol et les régimes pauvres en fibres pour minimiser et prévenir la formation de calculs biliaires.

La structure en plaque du calcul biliaire de cholestérol pur a été confirmée par les techniques MEB et XRD. Outre le cholestérol, la bilirubine et les sels de calcium ont également été observés dans les calculs biliaires de cholestérol mixte, ce qui indique un processus de formation différent pour les différents types de calculs biliaires.

Références bibliographiques

- Agadzhanov V. G., Shulutko A. M., Kazaryan A. M. Chirurgie de la lithiase biliaire principale par minilaparotomie. *Journal de Chirurgie Viscérale* (2013) ; 150(2) : 147-153.
- Abergel A., Allez M., Amiot A., Aparicio T., Asselah T., Assenat E., ... Zoulim F. Hépatogastro-entérologie-Chirurgie digestive : Réussir les ECNi. Elsevier Health Sciences (2018).
- Ansari-Moghaddam A., Khorram A., Miri-Bonjar M., Mohammadi M., Ansari H. The prevalence and risk factors of gallstone among adults in South-East of Iran: A population-based study. *Global journal of health science* (2016) ; 8(4) : 60.
- Agunloye A. M., Adebakin A. M., Adeleye J. O., Ogunseyinde A. O. Ultrasound prevalence of gallstone disease in diabetic patients at Ibadan, Nigeria. *Nigerian journal of clinical practice* (2013) ; 16(1) : 71-75.
- Ambe P. C., Weber S. A., Christ H., Wassenberg D. Primary cholecystectomy is feasible in elderly patients with acute cholecystitis. *Aging clinical and experimental research* (2015) ; 27(6) : 921-926.
- Abraham S., Rivero H. G., Erlikh I. V., Griffith L. F., Kondamudi V. K. Surgical and nonsurgical management of gallstones. *American family physician* (2014) ; 89(10) : 795-802.
- Athanasiadou D., Godelitsas A., Sokaras D., Karydas A. G., Dotsika E., Potamitis C., ...Becker U. New insights into the chemical and isotopic composition of human-body biominerals. I: Cholesterol gallstones from England and Greece. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* (2013) ; 27(2) 79-84.
- Abboud I. A. Concentration effect of trace metals in Jordanian patients of urinary calculi. *Environmental geochemistry and health* (2008) ; 30(1) : 11-20.
- Ashish B., Neeti, K., Himanshu, K. Copper toxicity: a comprehensive study. *Res J Recent* (2013) ; 2(2012) : 58-67.
- Ashok M., Rautray T., Nayak P., Vijayan V., Jayanthi V., Narayana Kalkura S. Energy dispersive X-ray fluorescence analysis of gallstones. *Journal of radioanalytical and nuclear chemistry* (2003) ; 257(2) : 333-335.
- Alatise O. I., Obiajunwa E. I., Lawal O. O., Adesunkanmi A. R. Particle-induced X-ray emission (PIXE) analysis of minor and trace elements in gallstones of Nigerian patients. *Biological trace element research* (2010) ; 134(1) : 13-24.
- Acalovschi M., Blendea D., Feier C., Letia A. I., Ratiu N., Dumitrascu D. L., Veres A. Risk factors for symptomatic gallstones in patients with liver cirrhosis: a case-control study. *The American journal of gastroenterology* (2003) ; 98(8) : 1856-1860.

- Angwafo III F. F., Takongmo S., Griffith D. Determination of chemical composition of gall bladder stones: basis for treatment strategies in patients from Yaounde, Cameroon. *World journal of gastroenterology* (2004) ; 10(2) : 303.
- Almarshad H. A., Badawy S. M., Alsharari A. F. Structural characterization of gallbladder stones using energy dispersive X-ray spectroscopy and X-ray diffraction. *Combinatorial chemistry and high throughput screening* (2018) ; 21(7) : 495-500.
- Buffet C. Lithiase biliaire : facteurs environnementaux et génétiques. *Médecine des Maladies Métaboliques* (2014) ; 8(4) : 402-407.
- Benrahhal S. Prise en charge de la lithiase de la vésicule biliaire à l'hôpital Ibn Tofail de Marrakech. Thèse de doctorat (2018) ; 90.
- Bergman S., Sourial N., Vedel I., Hanna W. C., Fraser S. A., Newman D., Bilek A. J., Galatas C., Marek J. E., Monette J. Gallstone disease in the elderly : are older patients managed differently?. *Surgical endoscopy* (2011) ; 25(1) : 55-61.
- Bonnet F. Diabète et complications hépatiques. In *Diabetologie* (2019) : 345-351.
- Boulay-Coletta I., Mollnié V., Loriau J., Zins M. Cholecystites aiguës : pièges et formes graves. *Journal de Radiologie* (2009) ; 90(10) 1205-1206.
- Biehler-Gomez L., Maderna E., Brescia G., Cappella A., Rizzi A., Cattaneo C. "Aged" autopsy gallstones simulating dry bone context: A morphological, histological and SEM-EDS analysis. *International journal of paleopathology* (2019) ; 24 : 60-65.
- Banger M., Khand F., Khuhawar M., Channa N. Study of Some Metal Elements in Four Chemically Different Types of Human Gallstones. *Journal of The Chemical Society of Pakistan* (2011) ; 26(4) : 123.
- Bakthavatchalam M., Venkataraman J., Ramana R. J., Jain M., Singh B., Thanigai A. K., ... & Kalkura N. S. Morphological and elemental mapping of gallstones using synchrotron microtomography and synchrotron X-ray (2019) ; 3(5), 381-387.
- Chauhan V. V., Shah B. A., Mahadik S. J., Videkar R. P. Evaluation of relationship of body mass index with severity of cholecystitis. *International Surgery Journal* (2019) ; 6(3) : 868-875.
- Conte D., Fraquelli M., Giunta M., Conti C. B. Gallstones and liver disease: an overview. *J Gastrointestin Liver Dis* (2011) ; 20(1) : 9-11.
- Chilimuri S., Gaduputi V., Tariq H., Nayudu S., Vakde T., Glandt M., Patel H. Symptomatic gallstones in the young: changing trends of the gallstone disease-related hospitalization in the state of New York: 1996-2010. *Journal of clinical medicine research* (2017) ; 9(2) : 117.

- Cho J. Y., Han H. S., Yoon Y. S., Ahn K. S. Risk factors for acute cholecystitis and a complicated clinical course in patients with symptomatic cholelithiasis. *Archives of surgery* (2010) ; 145(4) : 329-333.
- Chandran P., Kuchhal N. K., Garg P., Pundir C. S. An extended chemical analysis of gallstone. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* (2007) ; 22(2) : 145-150.
- Cheng C. L., Chang H. H., Chen T. H., Tsai P. J., Huang Y. T., Huang P. J., Lin S. Y. Spectral and morphological classification of different chronic and acute Taiwanese gallstones via FTIR, SEM and ESEM-EDX microanalyses. *Digestive and Liver Disease* (2016) ; 48(5) : 519-527.
- Channa N. A., Khand F. D., Khand T. U., Leghari M. H., Memon A. N. Analysis of human gallstones by Fourier Transform Infrared (FTIR). *Pakistan Journal of medical sciences* (2007) ; 23(4) : 546.
- Cavalu S., Popa A., Bratu I., Borodi G., Maghiar A. New evidences of key factors involved in “silent stones” Etiopathogenesis and trace elements: microscopic, spectroscopic, and biochemical approach. *Biological trace element research* (2015) ; 168(2) : 311-320.
- Chowdhury A. H., Lobo D. N. Gallstones. *Surgery (Oxford)* (2011) ; 29(12) : 610-617.
- Chandran P., Kuchhal N. K., Garg P., Pundir C. S. An extended chemical analysis of gallstone. *Indian Journal of Clinical Biochemistry* (2007) ; 22(2) 145-150.
- Cariati A. Gallstone classification in western countries. *Indian Journal of Surgery* (2015) ; 77(2) : 376-380.
- Desbeaux A., Hec F., Andrieux S., Fayard A., Bresson R., Pruvot M. H., Mulliez E. Prévention de la lithiase biliaire et de ses complications après chirurgie bariatrique. *Journal de Chirurgie Viscérale* (2010) ; 147(4) : 278-281.
- Di Ciaula A., Portincasa P. Recent advances in understanding and managing cholesterol gallstones. *F1000Research* (2018) ; 7.
- Di Ciaula A., Wang D. Q. H., Portincasa P. An update on the pathogenesis of cholesterol gallstone disease. *Current opinion in gastroenterology* (2018) ; 34(2) : 71-80.
- Dai Q., Cantwell M. M., Murray L. J., Zheng W., Anderson L. A., Coleman H. G. Dietary magnesium, calcium: magnesium ratio and risk of reflux oesophagitis, Barrett’s oesophagus and oesophageal adenocarcinoma: a population-based case–control study. *British Journal of Nutrition* (2016) ; 115(2) : 342-350.
- Erguibi D., El Yamine O., Yassine B., Boufettal R., Jai S. R., Chehab F. Biliary Lithiasis: An Epidemiological, Clinical and Therapeutic Retrospective Study. *Asian Journal of Research and Reports in Gastroenterology* (2020) ; 22-31.

- Frybova B., Drabek J., Lochmannova J., Douda L., Hlava S., Zemkova D., Mixa V., Kyncl M., Zeman L., Rygl M., Keil R. Cholelithiasis and choledocholithiasis in children; risk factors for development. *PloS one* (2018) ; 13(5) : e0196475.
- Fuks D., Duhaut P., Mauvais F., Pocard M., Haccart V., Paquet J. C., Millat B., Regimbeau J. M. A retrospective comparison of older and younger adults undergoing early laparoscopic cholecystectomy for mild to moderate calculous cholecystitis. *Journal of the American Geriatrics Society* (2015) ; 63(5) : 1010-1016.
- Fukami Y., Kurumiya Y., Mizuno K., Sekoguchi E., Kobayashi S. Cholecystectomy in octogenarians: be careful. *Updates in surgery* (2014) ; 66(4) : 265-268.
- Frybova B., Drabek J., Lochmannova J., Douda L., Hlava S., Zemkova D., Mixa V., Kyncl M., Zeman L., Rygl M., Keil R. Cholelithiasis and choledocholithiasis in children; risk factors for development. *PloS one* (2018) ; 13(5) : e0196475.
- Godelitsas A., Nastos P., Mertzimekis T. J., Toli K., Simon R., Göttlicher J. A microscopic and Synchrotron-based characterization of urban particulate matter (PM10–PM2.5 and PM2.5) from Athens atmosphere, Greece. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* (2011) ; 269(24) : 3077-3081.
- Haal S., Guman, M. S., Bruin, S., Schouten, R., van Veen, R. N., Fockens, P., Voermans, R. P. Risk Factors for Symptomatic Gallstone Disease and Gallstone Formation After Bariatric Surgery. *Obesity Surgery* (2022) :1-9.
- Ha B. J., Park S. Classification of gallstones using Fourier-transform infrared spectroscopy and photography. *Biomaterials research* (2018) ; 22(1) : 1-8.
- Jarrar B. M., Al-Rowaili M. A. Chemical composition of gallstones from Al-jouf province of Saudi Arabia. *The Malaysian journal of medical sciences : MJMS* (2011) ; 18(2) : 47.
- Jaswal B. B. S., Rai P. K., Singh T., Zorba V., Singh V. K. Detection and quantification of heavy metal elements in gallstones using X-ray fluorescence spectrometry. *X-Ray Spectrometry* (2019) ; 48(3) : 178-187.
- Jaswal B. B. S., Kumar V., Swart H. C., Sharma J., Rai P. K., Singh V. K. Multi-spectroscopic analysis of cholesterol gallstone using TOF-SIMS, FTIR and UV–Vis spectroscopy. *Applied Physics B* (2015) ; 121(1) : 49-56.
- Jaswal B. B. S., Sharma J., Kumar V., Khajuria Y., Singh V. K., Rai P. K. Elemental and molecular analysis of gallstones using wave-dispersive X-ray fluorescence and Fourier transform infra-red spectroscopy. *Advanced Science Letters* (2015) ; 21(8) : 2613-2617.
- Jaswal B. B. S., Kumar V., Sharma J., Rai P. K., Gondal M. A., Gondal B., Singh V. K. Analysis of heterogeneous gallstones using laser-induced breakdown spectroscopy (LIBS) and wavelength dispersive X-ray fluorescence (WD-XRF). *Lasers in medical science* (2016) ; 31(3) : 573-579.

- Krawczyk M., Miquel J. F., Stokes C. S., Zuniga S., Hampe J., Mittal B., Lammert F. Genetics of biliary lithiasis from an ethnic perspective. *Clinics and research in hepatology and gastroenterology* (2013) ; 37(2) : 119-125.
- Kimura Y., Takada T., Strasberg S. M., Pitt H. A., Gouma D. J., Garden O. J., ...Yamashita Y. TG13 current terminology, etiology, and epidemiology of acute cholangitis and cholecystitis. *Journal of hepato-biliary-pancreatic sciences* (2013) ; 20(1) : 8-23.
- Kim H. S., Cho S. K., Kim C. S., Park J. S. Big data and analysis of risk factors for gallbladder disease in the young generation of Korea. *PloS one* (2019) ; 14(2) : e0211480.
- Khan M., Kazi, T. G., Afridi H. I., Bilal M., Akhtar A., Khan S., Kadar S. Variation of calcium, copper and iron levels in serum, bile and stone samples of patients having different types of gallstone: A comparative study. *Clinica Chimica Acta* (2017) ; 471 : 254-262.
- Kumar M., Goyal B. B., Mahajan M., Singh S. Role of iron deficiency in the formation of gall stones (2006).
- Kothai S., Gayathri K., Kannappan V., Perumal P., Manimegalai K. Identification of gallstones using spectroscopic technique. *International Journal of Chem Tech research* (2009) ; 1(3) : 430-35.
- Kleiner O., Ramesh J., Huleihel M., Cohen B., Kantarovich K., Levi C., ... Mordechai S. A comparative study of gallstones from children and adults using FTIR spectroscopy and fluorescence microscopy. *BMC gastroenterology* (2002) ; 2(1) : 1-14.
- Khan M., Kazi T. G., Afridi H. I., Bilal M., ... Khan S., Talpur S. Application of ultrasonically modified cloud point extraction method for simultaneous enrichment of cadmium and lead in sera of different types of gallstone patients. *Ultrasonics sonochemistry* (2017) ; 39 : 313-320.
- Kaur T., Kaur S. Pathophysiological conditions in cholelithiasis formation in North Indian population: spectroscopic, biophysical, and biochemical study. *Biological trace element research* (2010) ; 138(1) : 79-89.
- Lammert F., Gurusamy K., Ko, C. W., Miquel J. F., Méndez-Sánchez N., Portincasa P., Erpecum K. J. V., Laarhoven C. J. V., Wang D. Q. H. Gallstones. *Nature reviews Disease primers* (2016) ; 2(1) : 1-17.
- Lachgar M., Benelkhaiat R., Finech B. Aspects épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques de la lithiase biliaire au CHU Mohammed VI Marrakech. *Faculté de Médecine et de Pharmacie Marrakech* (2011).
- Lai Fan L., hui Chen B., juan Dai Z. The relation between gallstone disease and cardiovascular disease. *Scientific reports* (2017) ; 7(1) : 1-8.
- Lv J., Yu, C., Guo Y., Bian Z., Yang L., Chen Y., ... Li L. Gallstone disease and the risk of type 2 diabetes. *Scientific reports* (2017) ; 7(1) : 1-8.

- Loozen C. S., van Ramshorst B., van Santvoort H. C., Boerma D. Cholécytite aiguë chez les patients âgés : justification d'une cholécystectomie précoce. *Journal de Chirurgie Viscérale* (2018) ; 155(2) : 96-101.
- Lammert F., Acalovschi M., Ercolani G., van Erpecum K. J., Portincasa P. EASL Clinical Practice Guidelines on the prevention, diagnosis and treatment of gallstones (2016).
- Lammert F., Gurusamy K., Ko C. W., Miquel J. F., Méndez-Sánchez N., Portincasa P., Van Erpecum K. J., Van Laarhoven C. E. J., Wang D. Q. H. Gallstones. *Nature reviews Disease primers* (2016) ; 2(1) : 1-17.
- Laloum E., Dao N. Q., Daudon M. Cluster analysis of gallstone FT-IR spectra: tests on simulated mixture spectra and comparison between spectral and morphological classification of human gallstones. *Applied spectroscopy* (1998) ; 52(9) : 1210-1221.
- Liu G., Xing D., Wang H., Wu J. Vibrational spectroscopic study of human pigment gallstones and their insoluble materials. *Journal of molecular structure* (2002) ; 616(1-3) : 187-191.
- Lee S. K., Kim M. H. Natural history of gallstone; an important and old issue, but still debatable (2010): 651-652.
- Lee J. Y., Keane M. G., Pereira S. Diagnosis and treatment of gallstone disease. *The Practitioner* (2015) ; 259(1783) : 15-9.
- Mazlum M., Dilek F. H., Yener A. N., Tokyol Ç., Aktepe F., Dilek O. N. Profile of gallbladder diseases diagnosed at Afyon Kocatepe University: a retrospective study. *Turk Patoloji Derg* (2011) ; 27(1) : 23-30.
- Njeze G. E. Gallstones. *Nigerian Journal of surgery* (2013); 19(2): 49-55.
- Nagaraj S. K., Paul P., Kumar M. K., Muninarayanapp S., Anantharamaiah H. Risk factors and the biochemical evaluation of biliary calculi in rural kolar, karnataka, India: a rural perspective of an urban disease. *JCDR* (2012) ; 6(3) : 364-8.
- Nikfarjam M., Yeo D., Perini M., Fink M. A., Muralidharan V., Starkey G., Jones R. M., Christophi C. Outcomes of cholecystectomy for treatment of acute cholecystitis in octogenarians. *ANZ journal of surgery* (2014) ; 84(12) : 943-948.
- Omer L. S. Quantitative analysis in (33) traces metals in human gallstones by ICP-AES. *International Journal of Chemistry* (2011) ; 3(2), 105.
- Okumuşoğlu N. T., Korkmaz F., Birchall J. PIXE analysis of gallstones from Turkish patients. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* (2006) ; 562(2) : 1054-1056.
- Pan L., Chen M., Ji L., Zheng L., Yan P., Fang J., Zhang B., Cai X. The safety and efficacy of laparoscopic common bile duct exploration combined with cholecystectomy for the management of

- cholecysto-choledocholithiasis: an up-to-date meta-analysis. *Annals of surgery* (2018) ; 268(2) : 247-253.
- Palermo M., Berkowski D. E., Córdoba J. P., Verde J. M., Giménez M. E. Prevalence of cholelithiasis in Buenos Aires, Argentina. *Acta Gastroenterológica Latinoamericana* (2013) ; 43(2) : 98-105.
 - Peter A., Cozmuta L. M., Nicula C., Cozmuța A. M., Vulpoi A., Barbu-Tudoran L., ... Pop, F. G. Multi-analyses of gallstones and correlation between their properties with the laboratory results. *Analytical biochemistry* (2020) ; 593 : 113587.
 - Philipp Schuchardt J., Hahn A. Intestinal absorption and factors influencing bioavailability of magnesium-an update. *Current Nutrition & Food Science* (2017) ; 13(4) : 260-278.
 - Palacios C., Wigertz K., Braun M., Martin B. R., McCabe G. P., McCabe L., ratt J. H., Peacock M., Weaver C. M. Magnesium retention from metabolic-balance studies in female adolescents: impact of race, dietary salt, and calcium. *The American of Clinical Nutrition* (2013) ; 97(5) : 1014-1019.
 - Pathak A. K., Kumar R., Singh V. K., Agrawal R., Rai S., Rai A. K. Assessment of LIBS for spectrochemical analysis: a review. *Applied Spectroscopy Reviews* (2012) ; 47(1) : 14-40.
 - Pak M., Lindseth G. Risk factors for cholelithiasis. *Gastro Nursing* (2016) ; 39(4) : 297-309.
 - Prasad P. C., Gupta S. To study serum iron levels in patients of gall bladder stone disease and to compare with healthy individuals. *Indian Journal of Surgery* (2015) ; 77(1) : 19-22.
 - Pradhan S. B., Joshi M. R., Vaidya A. Prevalence of different types of gallstone in the patients with cholelithiasis at Kathmandu Medical College, Nepal. *Kathmandu university medical journal* (2009) ; 7(3) : 268-271.
 - Qiao T., MA R. H., Luo X. B., Luo Z. L., Zheng P. M., Yang L. Q. A microstructural study of gallbladder stones using scanning electron microscopy. *Microscopy research and technique* (2013) ; 76(5) : 443-452.
 - Qiao T., Ma R. H., Luo X. B., Yang L. Q., Luo Z. L., Zheng P. M. The systematic classification of gallbladder stones. *Plos one* (2013) ; 8(10) : e74887.
 - Rakotomena S. D., Arimino S., Rahantsoa F. C. F. P., Rahehinandrasana A. H., Rajaonarivony T., Ratsimba H. N. R. Epidemiology and Risk Factor of the Gallstone Disease in a Southern Tropical Country. *European Journal of Clinical and Biomedical Sciences* (2019) ; 5(6) : 73.
 - Ramya J. R., Arul K. T., Epple M., Giebel U., Guendel-Graber J., Jayanthi V., Sharmaf M., Rela M., Kalkura S. N. Chemical and structural analysis of gallstones from the Indian subcontinent. *Materials Science and Engineering : C* (2017) ; 78 : 878-885.
 - Rautray T. R., Vijayan V., Panigrahi S. Analysis of Indian pigment gallstones. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* (2007) ; 255(2) : 409-415.

- Rautray T. R., Vijayan V., Panigrahi S. Analysis of Indian cholesterol gallstones by particle-induced X-ray emission and thermogravimetry–derivative thermogravimetry. *European journal of gastroenterology & hepatology* (2006) ; 18(9) : 999-1003.
- Stinton L. M., Shaffer E. A. Epidemiology of gallbladder disease: cholelithiasis and cancer. *Gut and liver* (2012) ; 6(2) : 172–187.
- Shelton J., Kummerow K., Phillips S., Griffin M., Holzman M. D., Nealon W., Pinson W., Poulouse B. K. An urban-rural blight? Choledocholithiasis presentation and treatment. *Journal of Surgical Research* (2012) ; 173(2) : 193-197.
- Stokes C. S., Gluud L. L., Casper M., Lammert F. Ursodeoxycholic acid and diets higher in fat prevent gallbladder stones during weight loss: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Clinical Gastroenterology and Hepatology* (2014) ; 12(7) : 1090-1100.
- Stinton L. M., Myers R. P., Shaffer E. A. Epidemiology of gallstones. *Gastroenterology Clinics* (2010) ; 39(2) : 157-169.
- Shareef K. M., Omer L. A., Garota S. A. Predicting the chemical composition of gallstones by FTIR spectroscopy. *Biomedical and Pharmacology Journal* (2015) ; 1(1) : 25-30.
- Serefko A., Szopa A., Wlaź P., Nowak G., Radziwoń-Zaleska M., Skalski M., Poleszak E. Magnesium in depression. *Pharmacological Reports* (2013) ; 65(3) : 547-554.
- Silva M. A., Wong T. Gallstones in chronic liver disease. *Journal of Gastrointestinal Surgery* (2005) ; 9(5) : 739-746.
- Sipos P. Some effects of lead contamination on liver and gallbladder bile. *Acta Biologica Szegediensis* (2003) ; 47(1-4) : 139-142.
- Sikkandar S., Jayakumar S., Gunasekaran S., Renugadevi T. S., Alwar B. Study on the analysis of human gallstones using Fourier transform infrared spectroscopic technique. *Int J ChemTech Res* (2011) ; 3(1) : 149-54.
- Schafmayer C., Hartleb J., Tepel J., Albers S., Freitag S., Völzke H., ...Hampe J. Predictors of gallstone composition in 1025 symptomatic gallstones from Northern Germany. *BMC gastroenterology* (2006) ; 6(1) : 1-9.
- Singh V. K., Jaswal B. S., Sharma J., Rai P. K. Analysis of stones formed in the human gall bladder and kidney using advanced spectroscopic techniques. *Biophysical reviews* (2020) ; 12 : 647-668.
- Suo T., Peng P., Feng M., Liu H., Ai Z., Qin X. Fixed-point and stratified analysis of the fine structure and composition of five gallstones with Fourier transform infrared (IRTF) specular reflection spectroscopy. *Microscopy research and technique* (2012) ; 75(3) : 294-299.

- Shabanzadeh D. M., Skaaby T., Sørensen L. T., Eugen-Olsen J., Jørgensen T. Metabolic biomarkers and gallstone disease—a population-based study. *Scandinavian journal of gastroenterology* (2017) ; 52(11) : 1270-1277.
- Tiderington E., Lee S. P., Ko C. W. Gallstones: new insights into an old story. *F1000 Research* (2016) ; 5.
- Tack I., Hébel P., Fantino M. Boire suffisamment d'eau peut-il protéger nos reins ? *Cahiers de Nutrition et de Diététique* (2016) ; 51(4) : 204-210.
- Venneman N. G., Van Erpecum K. J. Pathogenesis of gallstones. *Gastroenterology Clinics* (2010) ; 39(2) : 171-183.
- Wang F., Wang J., Li Y., Yuan J., Yao P., Wei S., Guo H., Zhang X., Yang H., Wu T., He M. Gallstone disease and type 2 diabetes risk : a mendelian randomization study. *Hepatology* (2019) ; 70(2) : 610-620.
- Wang W., Li N. The association of gallstone disease and diabetes mellitus. A meta-analysis. *Saudi medical journal* (2014) ; 35(9) : 1005-1012.
- Wang DQH, Portincasa P, editors. *Gallstones. Recent advances in epidemiology, pathogenesis, diagnosis and management*, 1st ed. New York, NY: Nova Science Publisher Inc.; 2017. pp. 1–676.
- Weerakoon H., Navaratne A., Ranasinghe S., Sivakanesan R., Galketiya K. B., Rosairo S. Chemical characterization of gallstones: an approach to explore the aetiopathogenesis of gallstone disease in Sri Lanka. *PloS one* (2015) ; 10(4) : e0121537.
- Yuan D., Wei Y. G., Lin H. M., Li F. Q., Yang M., Liu X. L., Li B., Yan L. N., Zeng Y., Wen T. F., Zhao J. C., Yang J. Y. Risk factors of biliary complications following liver transplantation: retrospective analysis of a single centre. *Postgraduate medical journal* (2009) ; 85(1001) : 119-123.
- Yokoe M., Takada T., Strasberg S. M., Solomkin J. S., Mayumi T., Gomi H., ... Chen M. F. New diagnostic criteria and severity assessment of acute cholecystitis in revised Tokyo Guidelines. *Journal of Hepato-Biliary-Pancreatic Sciences* (2012) ; 19(5) : 578-585.
- Zhang D., Xiang J., Wang L., Xu Z., Sun L., ... Cai D. Comparative proteomic analysis of gallbladder bile proteins related to cholesterol gallstones. *PLoS One* (2013) ; 8(1) : e54489.
- Zhu L., Aili A., Zhang C., Saiding A., Abudureyimu K. Prevalence of and risk factors for gallstones in Uighur and Han Chinese. *World Journal of Gastroenterology: WJG* (2014) ; 20(40) : 14942.
- Zemour J., Marty M., Lapuyade B., Collet D., Chiche L. Gallbladder tumor and pseudotumor: Diagnosis and management. *Journal of visceral surgery* (2014) ; 151(4) : 289-300.
- Zhong L., Wang L., Xu L., Liu Q., Jiang L., Zhi Y., Lu W., Zhou P. The role of NOS-mediated ROS accumulation in an early phase Cu-induced acute cytotoxicity in MCF-7 cells. *Biometals* (2015) ; 28(1) : 113-122.

Conclusion générale et perspectives

Une enquête, auprès des patients hospitalisés au Centre Régional de Béni-Mellal et résidant que ce soit au milieu urbain ou rural de la région de Béni Mellal-Khénifra au Maroc, a été réalisée afin d'évaluer les facteurs d'impact sur la présence de la cristallurie et de la lithiase urinaire dans cette région. L'étude a porté, également, sur l'influence de ces facteurs sur la formation des calculs biliaires. Des analyses du profil chimique ont été effectuées sur ces derniers moyennant le Microscope Electronique à Balayage, la spectroscopie IR et la Diffraction des Rayons X.

Le présent travail a montré que les analyses physico-chimiques moins coûteuses couplées à la méthode de l'Analyse en Composantes Principales (ACP) peuvent être effectuées avec succès. Une telle technique de couplage mérite plus d'application auprès aussi bien des services de santé et d'environnement que de chercheurs. En fait, de telles techniques font augmenter la quantité de l'information tirée des bases de données des enquêtes. Elles permettent, également, de mieux comprendre les problématiques dans un temps moindre tout en assurant des erreurs minimales lors des prédictions.

Contrairement au facteur « genre » des patients, les facteurs « âge » et « qualité d'eau » ont un impact direct sur la présence de la cristallurie et sur sa nature chimique. Cependant, le pH ne semble pas être directement lié à la prévalence de la cristallurie. On peut déduire que l'étude de la cristallurie par méthode de Microscopie Optique à Lumière Polarisée couplée à la méthode de l'Analyse en Composantes Principales, pourrait être un moyen rentable, efficace et rapide lors des études épidémiologiques telles que celle du développement de la lithiase urinaire. Par conséquent, les techniques de couplage que préconise le présent travail interpelle les décideurs dans le domaine de la santé, notamment celui de la lithiase urinaire, à agir au stade de la prévention avant celui du traitement. Ceci peut épargner aux décideurs d'importants budgets alloués à la prise en charge de la lithiase urinaire dans le Maroc.

Par ailleurs, la méthode ACP, effectuée sur les patients ayant subi une opération chirurgicale de prélèvement des calculs urinaires, a montré que les facteurs : « âge », « genre », « origine géographique » et « qualité d'eau » peuvent avoir une influence sur la présence de la lithiase urinaire dans la région de Béni Mellal.

Il a été constaté que les calculs biliaires prennent de nombreuses formes, tailles, couleurs et textures. L'étude chimique, aussi bien qualitative que quantitative, de ces calculs, prélevés chez des patients traités à l'hôpital régional de Béni-Mellal au Maroc, a montré qu'ils peuvent être classés en différents groupes en fonction de leur composition en phase. La présence de différents sels de calcium (bilirubinate de calcium, carbonate de calcium et phosphate de calcium) est une caractéristique commune. En effet, la majorité des calculs biliaires étaient du cholestérol mélangé avec un nid de pigment, ce qui indique le rôle possible de la bilirubine élevée dans la bile sur la pathogénie des calculs biliaires. Il est donc impératif d'approfondir cette question, et cela serait particulièrement utile pour comprendre l'étiopathogénie des calculs biliaires chez les patients de la région étudiée. Une alimentation trop riche en cholestérol et en graisses dites saturées provenant des graisses animales, de certaines viandes et des dérivés gras du lait aurait une influence directe sur le taux de cholestérol dans les calculs biliaires de ces patients.

Les approches de caractérisation utilisées dans le présent travail sont d'une importance pratique pour les spécialistes qui analysent la composition quantitative en phase des calculs biliaires et leurs caractéristiques morphologiques au niveau submicronique. Grâce à ces considérations, une meilleure connaissance de cholélithiase humaine pourrait être accomplie.

En perspectives nous envisageons appliquer et développer la méthode d'Analyse en Composantes Principales et d'autres méthodes d'analyse des données dans le domaine d'imagerie médicale pour d'autres maladies et dans le domaine du contrôle de qualité des produits agroalimentaires ou autres.