

Collection Biologie médicale



Biochimie clinique

2^e édition

COORDONNATEUR

Pierre Valdigué

professeur de biochimie médicale à l'université Paul-Sabatier de Toulouse,
faculté de médecine de Rangueil,
médecin biologiste des hôpitaux de Toulouse, chef de service de biochimie
hôpital universitaire de Rangueil,
médecin rhumatologue

ditions
Médicales
inter nationales

Allée de la Croix Bossée
F-94234 Cachan cedex

2

Equilibre acidobasique

Marie-Laure Solera, Michel Lagente

Chez l'homme le pH des cellules et des liquides physiologiques de l'organisme ne doit varier que dans des limites étroites. Seules de faibles variations sont compatibles avec la vie.

L'organisme humain est confronté régulièrement à un afflux d'acides provenant de l'alimentation, surtout si celle-ci est camée, et de la respiration cellulaire. La régulation peut être prise en défaut si l'organisme est inondé de résidus acides comme cela peut se voir par exemple dans un diabète ou un traumatisme grave. La tendance permanente à l'acidose explique que l'organisme lutte plus efficacement contre les baisses de pH que contre l'alcalose.

Les moyens de lutte comprennent :

- **un moyen quasi instantané, automatique, mais assez vite débordé** : les systèmes tampons,
- **la mise en jeu d'un couple d'organes plus lents à réagir mais particulièrement puissants** : les poumons et les reins.

11. Rappels physicochimiques

i 1.1. pH

Le pH exprime l'acidité ou l'alcalinité d'un milieu. Il est égal au logarithme décimal de l'inverse de la concentration en ions H^{n+} .

$$pH = \log \frac{1}{[H^+]}$$

Valeurs physiologiques = 7,36 - 7,42

Variations maximales compatibles avec la vie = 6,90 - 7,70

1.2. Systèmes tampons et équation d'Henderson-Hasselbalch

Ce sont des mélanges de substances en équilibre chimique s'opposant aux variations de pH avec une efficacité d'autant plus grande que leurs concentrations sont plus élevées.

Ces systèmes assurent dans l'organisme une régulation rapide et automatique.

Un système tampon comprend généralement :

- un acide faible et son sel de base forte
- une base faible et son sel d'acide fort.

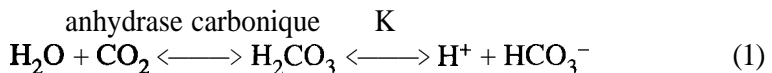
La réaction d'équilibre s'écrit avec K comme constante d'équilibre :



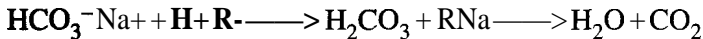
Le pouvoir tampon est maximum si $\text{pH} = \text{pK}$ ($\text{pK} = \log 1/K$) c'est-à-dire s'il y a équilibre des 2 composantes du tampon.

Le tampon quantitativement le plus important dans l'organisme est le système bicarbonate de sodium (NaHCO_3), acide carbonique (H_2CO_3).

Ce dernier est formé par CO_2 et H_2O sous l'influence d'une enzyme, l'anhydrase carbonique, et lors de sa dissociation, conduit à l'équilibre :

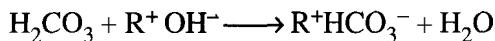


Si l'organisme est soumis à un acide fort, $\text{RH} (\text{R}^+\text{H}^-)$ la partie alcaline du tampon va intervenir



un acide fort a été transformé en un acide faible (CO_2) qui sera éliminé par les poumons.

Si l'organisme est soumis à une base forte, $\text{ROH} (\text{R}^+\text{OH}^-)$ la partie acide du tampon va réagir



une base forte a été transformée en une base faible (R^+HCO_3^-) qui sera éliminée par les reins.

Si nous appliquons la loi d'action de masse à la réaction (1) on peut écrire :

$$K = \frac{(\text{H}^+) (\text{HCO}_3^-)}{(\text{H}_2\text{CO}_3)} \rightarrow (\text{H}^+) = K \frac{(\text{H}_2\text{CO}_3)}{(\text{HCO}_3^-)} \rightarrow \frac{1}{(\text{H}^+)} = \frac{1}{K} \times \frac{(\text{HCO}_3^-)}{(\text{H}_2\text{CO}_3)} \rightarrow$$

$$\log \frac{1}{(\text{H}^+)} = \log \frac{1}{K} + \log \frac{(\text{HCO}_3^-)}{(\text{H}_2\text{CO}_3)}$$

$$\text{d'où : pH} = \text{pK} + \log \frac{(\text{HCO}_3^-)}{(\text{H}_2\text{CO}_3)} \text{ dans lequel pK est égal à 6,1.}$$

Or la concentration d'acide carbonique est proportionnelle à la concentration du CO_2 dissous avec un facteur de proportionnalité très faible que l'on peut intégrer dans la constante pK et qui ne change pratiquement pas celle-ci. On peut donc remplacer dans l'équation précédente le terme (H_2CO_3) par la concentration de CO_2 dissous. La loi de Henry (la quantité de gaz dissous dans un liquide est proportionnelle à la pression partielle du gaz à température constante) nous permet d'écrire que :

$$(\text{H}_2\text{CO}_3) = a \text{pCO}_2 \text{ où } a \text{ est la constante de solubilité}$$

Ceci nous conduit à l'équation d'Henderson Hasselbaich, fondamentale pour l'étude de l'équilibre acidobasique, dans laquelle on remarque que la partie acide est représentée par le CO_2 et la partie alcaline par les bicarbonates :

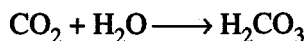
$$\text{pH} = 6,1 + \log \frac{[\text{HCO}_3^-]}{\text{pCO}_2}$$

Équation d'Henderson Hasselbaich

1.3. Formes de transport du CO_2 sanguin

1.3.1. CO_2 dissous

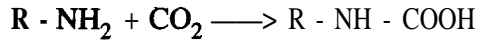
Une très faible quantité du CO_2 sanguin (5 %) est sous forme de CO_2 dissous dont la quantité est fonction de la pCO_2 , par l'intermédiaire de la constante de solubilité a . Une infime partie de ce CO_2 dissous est sous la forme d'acide carbonique par association à une molécule d'eau et est donc compris dans le CO_2 dissous.



En pratique on détermine la quantité de CO_2 dissous par la mesure de la pCO_2 .

1.3.2. CO_2 à l'état de carbamate

5 % du CO_2 sanguin peuvent se trouver sous forme de carbamate **par** combinaison aux protéines plasmatiques ou à l'hémoglobine globulaire.



1.3.3. CO_2 à l'état de carbonate acide (appelé encore bicarbonate)

90 % du CO_2 sanguin se trouvent sous forme de bicarbonates de sodium ou de potassium ($HCO_3^-Na^+$ et $HCO_3^-K^+$), la majorité étant située dans le plasma. Ces carbonates acides sont synthétisés dans le globule rouge sous l'influence de l'anhydrase carbonique et migrent ensuite dans le plasma.

Le CO_2 total **plasmatique** correspondra donc à :

CO_2 total = HCO_3^- plasmatique + CO_2 dissous (comprenant H_2CO_3) + CO_2 sous forme carbaminée.

2. Régulation de l'équilibre acidobasique

Elle fait intervenir successivement deux mécanismes :

- le premier correspond à la **mise en jeu des systèmes tampons**. Ces équilibres chimiques sont d'action quasi instantanée mais sont limités par les concentrations de leurs divers composants.

- Le relai est pris par l'intervention des moyens physiologiques que sont les **poumons** d'abord et les **reins** ensuite. Cette régulation est plus longue à se mettre en œuvre mais est d'une plus grande efficacité et pourra permettre la restauration complète du pH.

Cependant dans un certain nombre de cas, ces systèmes seront débordés et le pH pourra sortir des valeurs de référence.

2.1. Systèmes tampons

Les systèmes tampons de l'organisme les mieux étudiés sont ceux du sang et sont détaillés dans le tableau 2.1 avec leur pourcentage par rapport aux tampons sanguins totaux et leur pK. Le milieu intracellulaire par sa teneur en protéines et l'os par sa richesse en groupements phosphates jouent vraisemblablement un rôle important cependant encore mal connu.

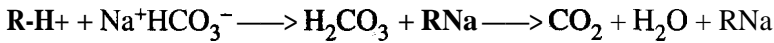
Tableau 2.1 • Systèmes tampons sanguins.

Tampons	pK	% Plasma	% Globules	% total
HCO ₃ ⁻ /H ₂ CO ₂	6,1	33	10	43
Hémoglobine/Hémoglobinate	7,83			
Oxyhémoglobine/Oxihémoglobinate	6,60		36	36
Protéines/protéinates	variable	12		12
H ₂ PO ₄ ⁻ /HPO ₄ ²⁻	6,8	2	7	9

2.7.7. Systèmes tampons plasmatiques

2.1.1.1. Système acide carbonique-bicarbonates

C'est quantitativement le plus important des systèmes tampons plasmatiques. Il représente 25 à 30 mmol/l. Ce système est surtout puissant pour lutter contre l'acidose puisque le rapport bicarbonates/acide carbonique est de l'ordre de 20. En présence d'un acide RH nous aurons la réaction :

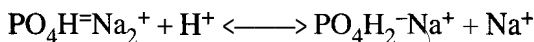


M.7.2. Système protéines-protéinates

Il a une action surtout comme moyen de lutte contre l'acidose. Le pouvoir tampon des protéines est dû à leurs différents groupements constitutifs. Les résidus d'acides aminés basiques comme l'arginine, l'omithine, la citrulline, la lysine, l'histidine permettent de lutter contre l'acidose en fixant un proton. Au contraire les résidus d'acide aspartique ou d'acide glutamique permettent de lutter contre l'alcalose en libérant un proton. Les protéines plasmatiques représentant environ 70 g/l, leur rôle dans cet équilibre acidobasique n'est pas négligeable.

2.1.1.3. Système tampon phosphate

La concentration plasmatique des phosphates inorganiques (Pi) est de l'ordre de 1 mmol/l. C'est dire que ces molécules jouent un rôle plasmatique mineur parmi les systèmes tampons. 85 % des Pi sont, au pH du sang, sous forme de phosphates mono acides disodiques (PO₄H⁻Na₂⁺) ce qui leur permet de fixer un proton pour donner des phosphates diacides monosodiques (PO₄H₂⁻Na⁺). Les 15 % de phosphates diacides peuvent au contraire céder un proton pour lutter contre une alcalose. La réaction globale s'écrit :

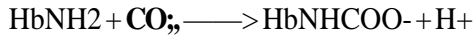


2.1.2. Systèmes tampons globulaires

Les systèmes des bicarbonates et des phosphates jouent un rôle non négligeable à l'intérieur des globules rouges.

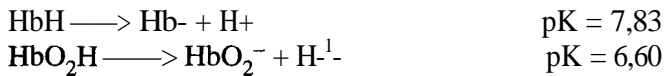
Les systèmes tampons liés à l'hémoglobine sont cependant beaucoup plus importants si l'on se souvient que la quantité d'hémoglobine est de l'ordre de 150 g par litre de sang. Ils interviennent de deux manières différentes :

- grâce au pouvoir de fixation du gaz carbonique sur l'hémoglobine avec **formation de dérivés carbaminés.**



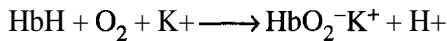
- grâce à la réactivité du groupement imidazole des résidus d'histidine capable de fixer les ions H^+ .

Au pH du sang l'hémoglobine et l'oxyhémoglobine se comportent comme des acides faibles pouvant se dissocier :

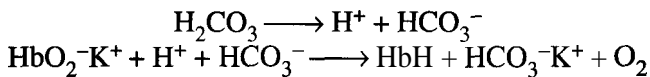


L'oxyhémoglobine est donc plus acide que l'hémoglobine.

En fait ces deux dernières réactions sont intriquées (figure 2.2). En effet l'oxyhémoglobine étant un acide plus fort que l'hémoglobine quand l'hémoglobine est **oxygénée au niveau des poumons, elle libère des ions H^+ .**



Au niveau des tissus l'oxyhémoglobine est réduite en hémoglobine et celle-ci va laisser dans le milieu une base en captant un proton venu de la dissociation de l'acide carbonique.



Au niveau des tissus la concentration élevée en CO_2 et la richesse des acides organiques vont diminuer le pH et cette acidité va permettre la libération de l'oxygène de l'oxyhémoglobine. Cette action du pH sur l'oxygénation de l'hémoglobine (figure 2.1) est appelé « effet Bohr ». A pression partielle d'oxygène (pO_2) égale, par exemple 40 mm de mercure (Hg), la saturation de l'hémoglobine est moindre pour un pH à 7,2 que pour un pH à 7,6.

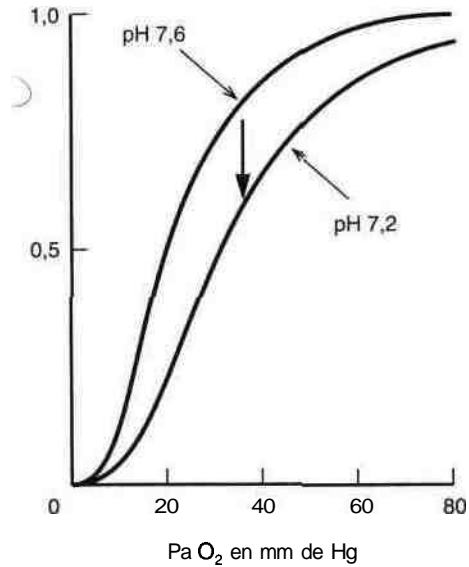


Figure 2.1 • Effet «Bohr».

•2.2. Régulation physiologique du pH

Lors d'un déséquilibre acidobasique, la première ligne de défense est formée par les systèmes tampons, la seconde est la régulation pulmonaire et la troisième est la restauration à long terme par les mécanismes rénaux.

2.2.1. Régulation pulmonaire

2.2.1.1. Centre respiratoire bulbaire

Ce centre est sensible à la variation de la concentration en protons du sang c'est-à-dire au pH. Une diminution du pH va entraîner une augmentation du rythme et de l'amplitude respiratoires de façon à éliminer le CO_2 en excès. L'augmentation du pH qui en résulte freinera la stimulation bulbaire. Réciproquement une augmentation du pH sera responsable d'une diminution du rythme et de l'amplitude respiratoires. Dans ce dernier cas la réaction pulmonaire doit rester compatible avec une oxygénation correcte du sang.

A un moindre degré interviennent des chémorecepteurs aortiques et carotidiens sensibles à la pO_2 sanguine et qui stimulent le centre bulbaire. Une diminution de la pO_2 sera par exemple responsable d'une hyperventilation.

Les caractéristiques de cette régulation pulmonaire sont une mise **en œuvre** rapide et une grande sensibilité aux variations du pH.

Cependant son efficacité est limitée car l'hyperventilation ne peut être augmentée indéfiniment et l'hypoventilation doit rester compatible avec la vie. De

plus les poumons n'interviennent que sur la composante acide du système bicarbonate/acide carbonique.

2.2.1.2. *Les échanges gazeux dans l'organisme*

► AU NIVEAU TISSULAIRE

Les tissus de par leur métabolisme fabriquent une grande quantité de CO_2 qui doit être pris en charge et éliminé au niveau des poumons. Les globules rouges (figure 2.2), à ce niveau tissulaire, arrivent chargés d'oxyhémoglobine.

Le CO_2 tissulaire, après avoir été dissous dans le plasma, va pénétrer dans le globule rouge :

- une petite quantité de ce gaz se fixe sur l'oxyhémoglobine pour constituer un carbamate en libérant l'oxygène.

- la plus grande partie du CO_2 réagit avec de l'eau pour former en présence de l'anhydrase carbonique, dont le globule rouge est riche, de l'acide carbonique. L'acide carbonique se décompose immédiatement en H^+ et HCO_3^- . Cet afflux de protons fait baisser le pH entraînant la libération de l'oxygène de l'oxyhémoglobine. Les ions H^+ se fixent alors sur l'hémoglobine laissant les ions bicarbonates dont un grand nombre va sortir de la cellule permettant à autant de chlorures de pénétrer. Cet échange bicarbonate/chlorure est appelé « effet Hamburger ».

Le CO_2 tissulaire a donc été transformé en bicarbonates dont le plus grand nombre ne reste pas dans le globule rouge et sera transporté par le plasma vers les poumons (ou les reins) pour son élimination.

► AU NIVEAU PULMONAIRE

Les globules rouges arrivent ici chargés de déoxyhémoglobine (HbH) et pour une petite part de carbaminohémoglobine. L'oxygène de l'alvéole pulmonaire, après s'être dissous dans le plasma pénètre dans le globule rouge :

- une petite partie se fixe sur la carbaminohémoglobine libérant alors le CO_2 .
- la part la plus importante vient se fixer sur l'hémoglobine libérant alors un proton (rappelons que l'oxyhémoglobine est plus acide que l'hémoglobine). Ce proton, en présence d'un bicarbonate plasmatique échangé contre un chlorure, se retrouve sous forme d'acide carbonique qui se dissocie immédiatement en CO_2 et FLD . Le gaz carbonique est alors éliminé dans l'air alvéolaire après avoir été dissous dans le plasma.

Le poumon est ainsi capable d'éliminer normalement 20 moles de gaz carbonique par jour.

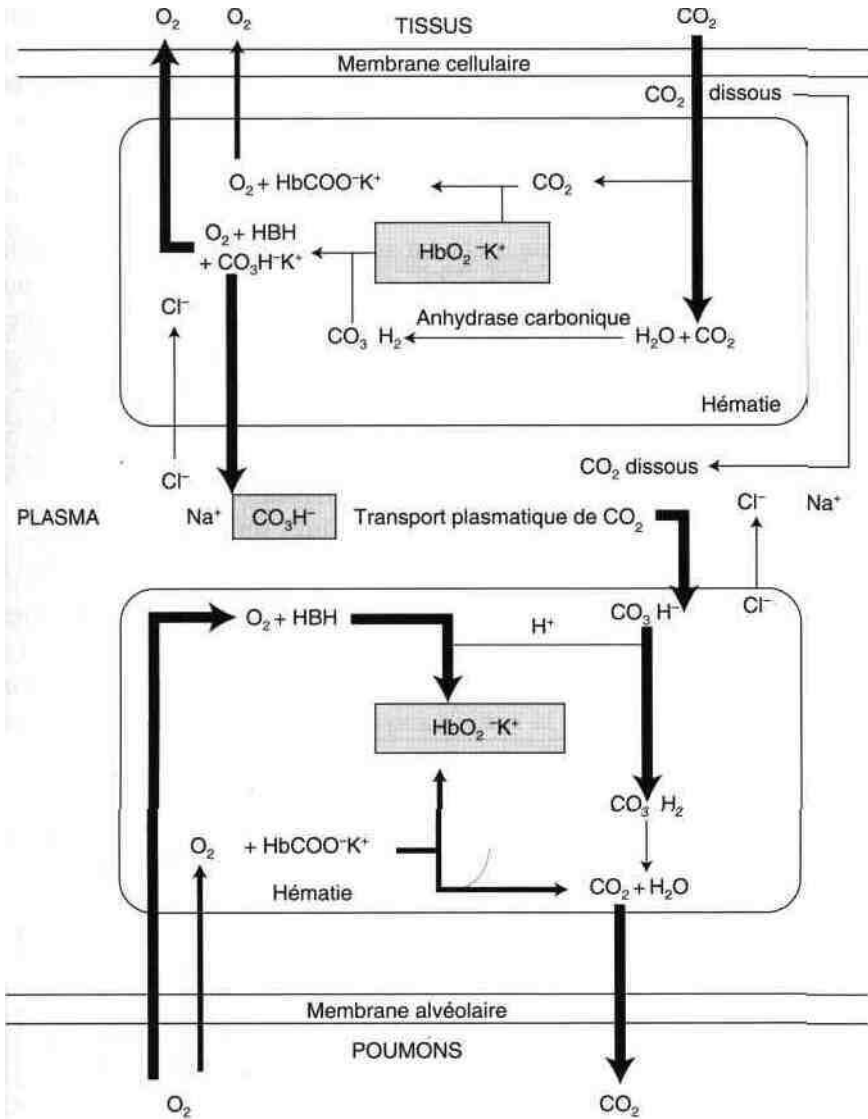


Figure 2.2 • Schéma des échanges respiratoires.

2.2.2. Régulation rénale

Elle est plus longue à réagir en cas de perturbations car elle intervient en tri-position. Cependant elle peut durer plus longtemps et représente un outil très efficace de lutte aussi bien contre l'acidose que contre l'alcalose. On peut considérer l'urine primitive comme un ultrafiltrat du plasma sanguin. Le rôle du rein sur l'équilibre acido-basique est double :

- il peut réabsorber la quasi totalité des bicarbonates filtrés, ou bien excréter **ceux ci** en cas de surcharge alcaline,
- il peut éliminer des ions H^{+} en générant des bicarbonates qui seront absorbés.

2.2.2.1. Réabsorption ou excrétion des bicarbonates

La cellule tubulaire proximale, riche en anhydrase carbonique, peut synthétiser de l'acide carbonique à partir de CO_2 et d'ELO. Celui-ci se dissocie immédiatement (figure 2.3) en protons et en bicarbonates. L'ion H^{+} est échangé contre un ion Na^{+} de l'urine primitive laissant le bicarbonate qui sera réabsorbé. Dans l'urine l'ion H^{+} se combinera avec un bicarbonate pour former un acide carbonique qui se dissocie immédiatement en CO_2 et eau. Ce CCL sera réabsorbé et participera à la réaction catalysée par l'anhydrase carbonique. On peut donc dire qu'à un bicarbonate filtré correspond un bicarbonate réabsorbé.

Normalement plus de 90 % des bicarbonates filtrés sont ainsi réabsorbés.

La réabsorption des bicarbonates dépend en particulier de la pCO_2 dont une élévation entraîne une réabsorption accrue et réciproquement.

C'est aussi à ce niveau qu'est réabsorbé en totalité le potassium filtré.

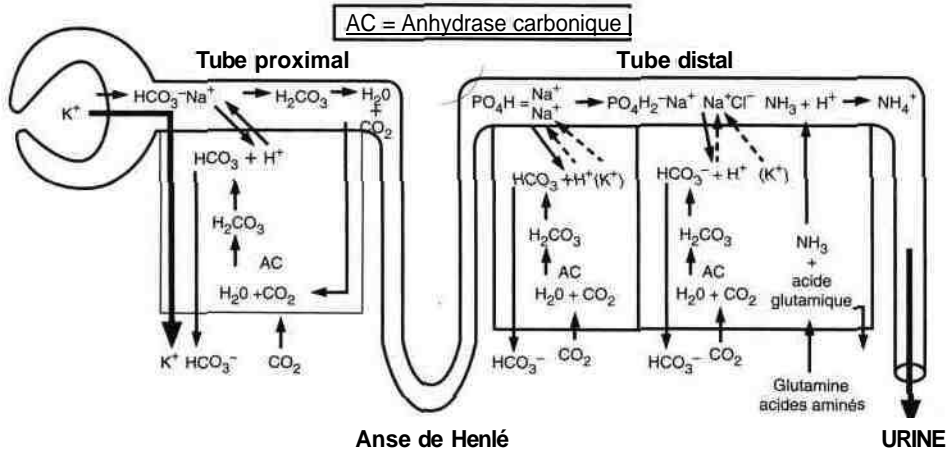


Figure 2.3 • Rôle du rein dans l'équilibre acidobasique

2.2.2.2. Élimination d'ions H^{+}

Elle se déroule au niveau du tube contourné distal où la cellule rénale, riche ici aussi en anhydrase carbonique, élimine un proton en l'échangeant contre un ion sodium. Le bicarbonate généré est ensuite réabsorbé dans le sang. La réabsorption du sodium est sous le contrôle de l'**aldostérone**.

A ce niveau existe une compétition entre un ion H^{+} et un ion K^{+} dans l'échange avec l'ion sodium réabsorbé : si un H^{+} est éliminé un ion K^{+} est retenu et réciproquement.

- Ces ions H^{+} peuvent se fixer sur des **phosphates monoacides** pour donner des phosphates diacides. Il s'agit de ce que l'on appelle l'acidité titrable qui est définie comme la quantité de soude 0,1 N nécessaire pour ramener le pH urinaire au pH plasmatique.

- Les ions H^{+} peuvent se fixer aussi sur une molécule **d'ammoniac** (NH_3), issue de la glutamine ou de certains autres acides aminés, pour former un ion ammonium NH_4^{+} qui, très peu diffusible, ne sera pas réabsorbé.

La compétition dans l'échange contre un ion sodium, d'un proton ou d'un ion potassium, est responsable de l'interaction du métabolisme du potassium avec l'équilibre acido-basique. Cette interaction rénale est complétée par une dépendance des deux métabolismes au niveau cellulaire (figure 2.4).

- En cas d'excès d'ions H^{+} ceux ci sont éliminés préférentiellement par le rein à la place d'ions potassium et de plus pénétreront dans les cellules faisant sortir le potassium. **Une acidose sera génératrice d'hyperkaliémie et réciproquement**

- En cas de déficit en ions H^{+} le potassium sera éliminé préférentiellement au niveau rénal et les ions H^{+} sortiront des cellules en échange avec des ions K^{+} . **Une alcalose sera génératrice d'hypokaliémie et réciproquement.**



Figure 2.4 • Échanges cellulaires au cours des perturbations de l'équilibre acido-basique.

3. Exploration biochimique

3.1. Prélèvement

► DOSAGE PLASMATIQUE OU SÉRIQUE SUR SANG VEINEUX

Beaucoup d'automates déterminent, à côté de nombreux autres constituants plasmatiques, les bicarbonates ou le CO_2 total :

- les bicarbonates peuvent être mesurés par une méthode colorimétrique (presque abandonnée aujourd'hui) ou par une méthode enzymatique ;
- le CO_2 total est le plus souvent mesuré par une méthode électrométrique après que l'ensemble du CO_2 plasmatique (bicarbonates compris) ait été libéré par un acide.

Dans ces conditions le prélèvement est effectué normalement sur sang veineux et la deuxième méthode donne des résultats légèrement plus élevés que la première.

► SANG ARTÉRIEL

Une véritable exploration des gaz du sang, appelée généralement « gazométrie » mesure le **pH, la pCO_2 , la pO_2** . Dans ces conditions le prélèvement doit être artériel ce qui permettra d'apprécier en particulier l'hématose (l'oxygénation du sang).

Le patient doit être au repos pour éviter les effets d'une hyperventilation de stress, et la ponction se fait au niveau d'une artère (fémorale, humérale...).

Chez le nourrisson une microméthode peut être pratiquée, et si l'accès artériel est délicat, une ponction capillaire périphérique sera préférée (au niveau d'un doigt, du lobe de l'oreille, ou du talon après dilatation vasculaire par massage ou chaleur).

Dans tous les cas, le sang est prélevé sûr héparine, sans introduction de bulle d'air, homogénéisé par retournement, et maintenu en anaérobiose stricte jusqu'à son analyse. On pourra noter la température du patient ce qui permettra de faire d'éventuelles corrections. Le matériel le plus fréquemment utilisé est la seringue héparinée, maintenue hermétique après ponction par un bouchon.

Le capillaire utilisé pour une microméthode devra contenir un petit barreau en fer permettant l'homogénéisation du sang avant analyse à l'aide d'un aimant extérieur. Le capillaire sera bouché hermétiquement aux deux extrémités avec du mastic.

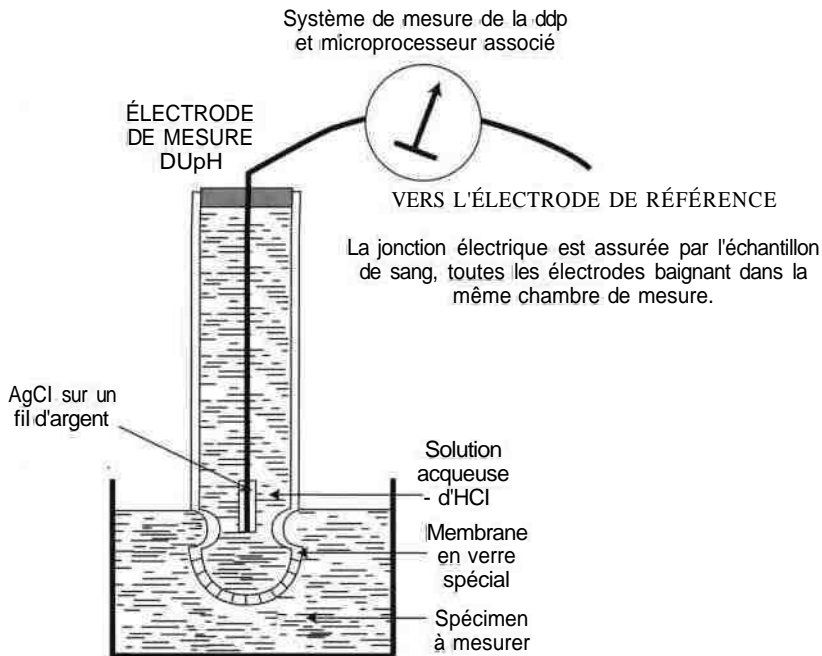
Le prélèvement sera analysé **sans délai**, et en cas de force majeure, devra être maintenu au réfrigérateur à + 4°C pendant un maximum d'une heure.

3.2. Mesures de trois paramètres : pH, PO_2 , PCO_2

Bien que la mesure soit effectuée sur sang total, les électrodes sélectives utilisées sont sensibles aux éléments contenus dans l'eau plasmatique et les résultats sont donc ceux du plasma et non du sang total.

3.2.1. Mesure du pH

Elle est faite à l'aide d'une électrode de verre schématisée dans la figure 2.5 thermostatée à 37 °C et miniaturisée (figure 2.6). La différence de potentiel est obtenue par rapport à une électrode de référence.



1

Figure 2.5 • Électrode de verre pour la mesure du pH associée à une électrode de référence.

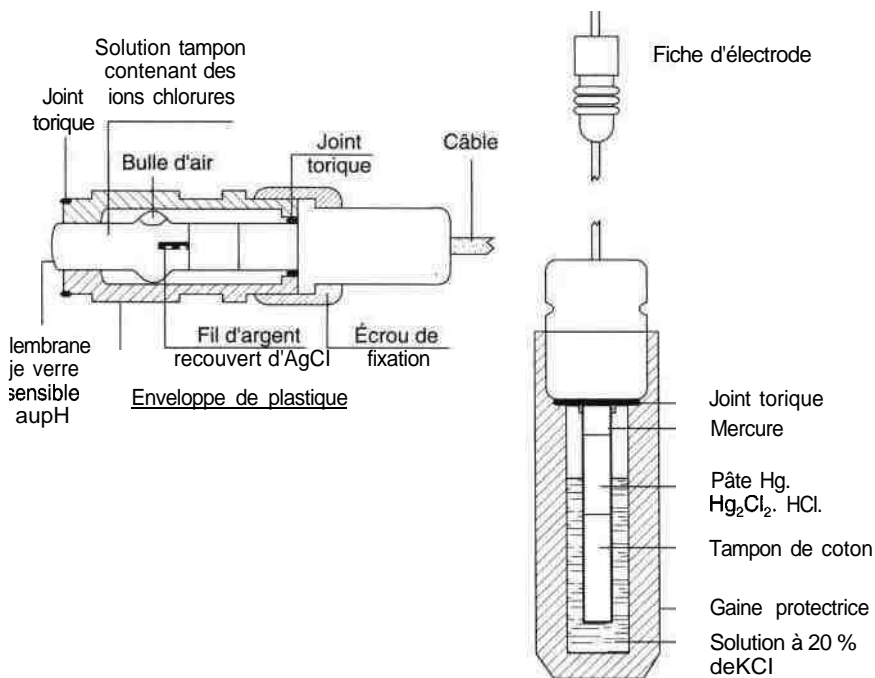


Figure 2.6
• (ague).

Électrode de mesure du pH et de référence (Société Radiometer, Copen-

3.2.2. Mesure de la pO_2

La pO_2 est mesurée par une méthode polarographique utilisant l'électrode de Clark dont le principe est donné dans la figure 2.7 et un exemple de commercialisation dans la figure 2.8.

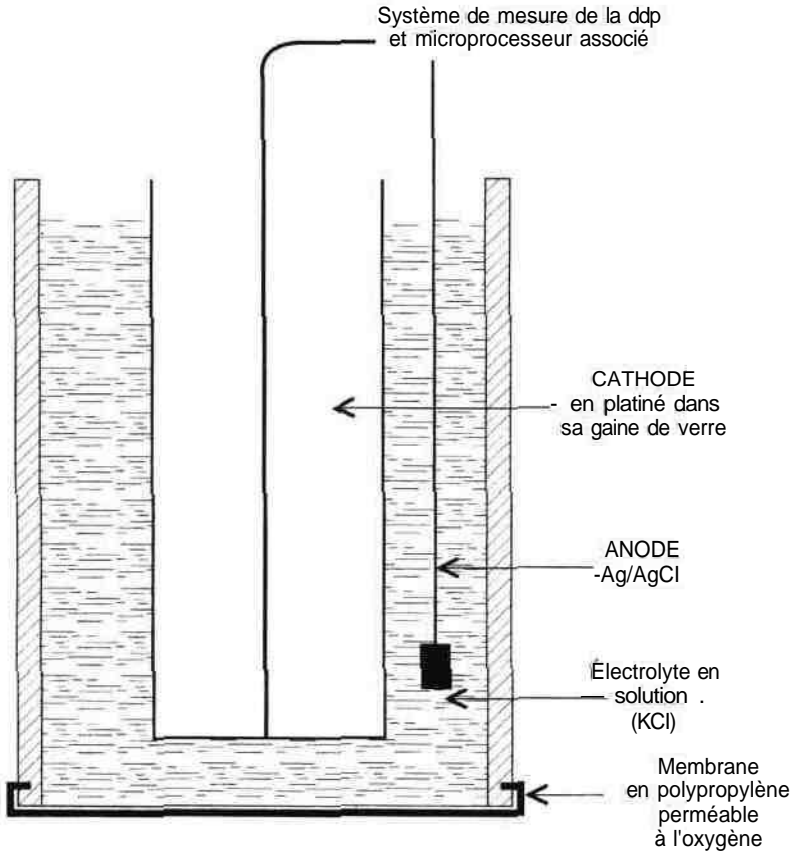


Figure 2.7 • Électrode de Clark

Les valeurs physiologiques sont :

70 à 95 mmHg sang A
37 à 40 mmHg sang V

soit **9,31 à 12,63 kPa**
soit **4,92 à 5,32 kPa**

Il faut noter que la pO_2 artérielle diminue avec l'âge et avec l'altitude.

Age (en années)	pO ₂ (mmHg) moyenne et extrêmes	
20-29	94	(84-104)
30-39	91	(81-101)
40-49	88	(78-98)
50-59	84	(74-94)
60-69	81	(71-91)

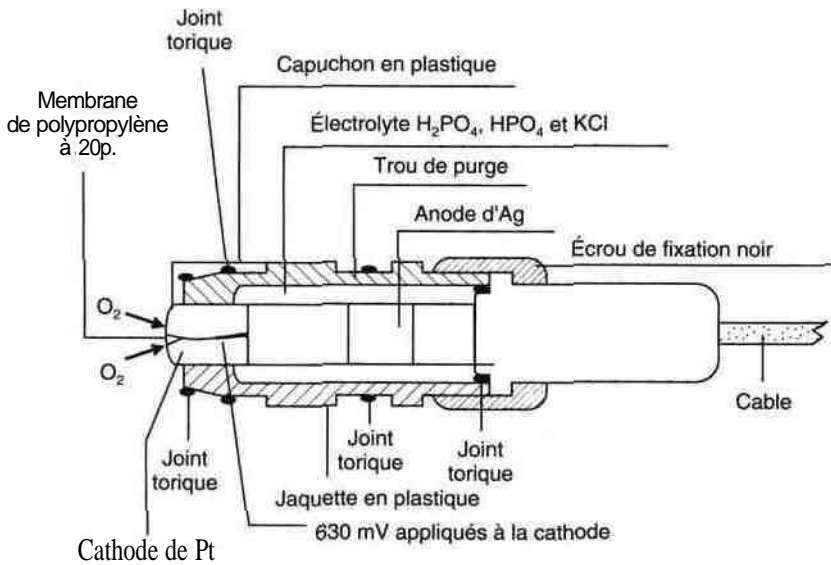
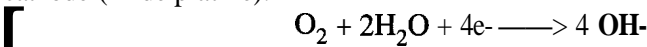


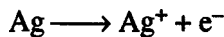
Figure 2.8 • Électrode de mesure de la pO₂.

(Société Radiometer Copenhague.)

Le principe de la mesure de la pO₂ est basé sur le fait qu'une électrode soumise à un potentiel de polarisation constant (0,6 volt) fournit un courant directement proportionnel à la pO₂ diffusant au niveau de la surface de réaction de l'électrode. Ce courant est produit par la réduction de l'O₂ au niveau de la cathode (fil de platine).



L'alimentation en électrons à la cathode, est assurée par une anode en argent chloruré (Ag/AgCl).



Le débit d'électrons consommés est proportionnel à la pO_2 présente.

L'électrode est recouverte d'une membrane de polypropylène perméable aux gaz et à l' O_2 ce qui la rend spécifique. Il faut la changer tous les 20 à 30 jours. Sur les nouveaux appareils, les électrodes sont jetables. La détérioration de la membrane se reconnaît par une diminution de la sensibilité et une instabilité.

La pO_2 mesurée est directement en rapport avec l' O_2 dissous dans le sang et non avec l'O, combiné à l'hémoglobine. Au cours d'une asphyxie à l'oxyde de carbone, dans laquelle l'hémoglobine n'est plus apte à transporter l'oxygène, la pO_2 peut être normale.

La pO_2 est très sensible aux variations de température. Il faut bien thermostatier l'électrode et tenir compte de la température du sujet. Si le prélèvement a été conservé à $+ 4^\circ$, réchauffer rapidement celui-ci à température ambiante avant le dosage. •

3.2.3. Mesure de la pCO_2

Elle est faite grâce à l'électrode de Severinghaus (figure 2.9) dont un exemple de commercialisation est donné dans la figure 2.10.

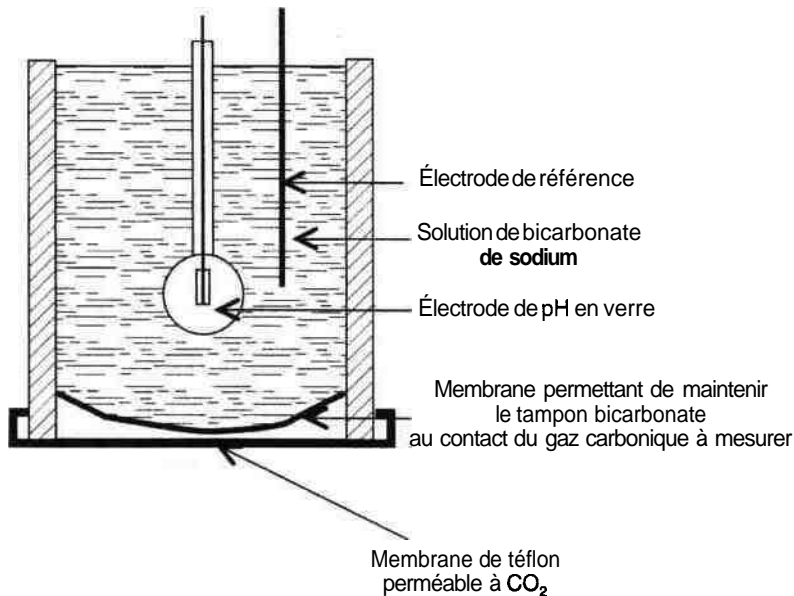
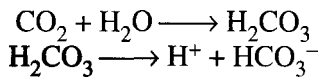


Figure 2.9 • Électrode de Severinghaus : le CO_2 du spécimen fait varier le pH de la solution de bicarbonate mesuré par l'électrode de verre.

Valeurs physiologiques = **35 à 44 mmHg sang A** soit **4,65 à 5,85 kPa**
 42 à 48 mmHg sang V soit 5,58 à 6,38 kPa

La mesure de $p\text{CO}_2$ se ramène à une mesure de pH. Par méthode électrométrique, on mesure les variations de pH d'une solution de bicarbonates séparée du sang par une fine membrane en téflon (ou silicone) perméable au CO_2 uniquement. La diffusion du CO_2 entraîne un abaissement du pH qui est proportionnel à la quantité de CO_2 présent. L'électrode est composée d'une électrode de mesure de pH en verre et d'une électrode de référence miniaturisée. Le CO_2 de l'échantillon diffuse à travers la membrane puis se dissout dans l'électrolyte.



L'augmentation de H^{**} fournit un potentiel variant logarithmiquement avec la $p\text{CO}_2$.

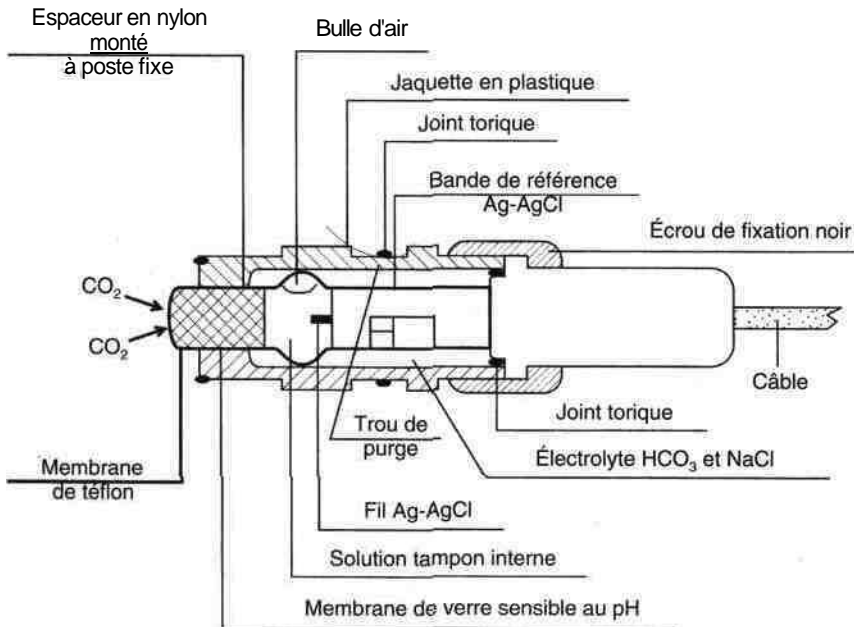


Figure 2.10 • Electrode de mesure de la $p\text{CO}_2$.

(Société Radiometer Copenhague.)

3.3. Calcul des autres paramètres

Les appareils modernes permettent, à partir d'abaques mises en mémoire, de **calculer** un certain nombre de paramètres supplémentaires. Certains demandent la connaissance de la concentration en hémoglobine qui est souvent directement mesurée par l'appareillage, mais qui parfois sur d'autres types de matériel doit être introduite dans le calculateur si elle est connue. Si elle n'est pas connue il est possible de donner une valeur forfaitaire.

3.3.1. Concentration en bicarbonates

C'est la concentration des ions HCO_3^- , en mmol/l de plasma qui est déduite par le calcul de la mesure de pCO_2 et du pH à l'aide de l'équation d'Henderson Hasselbalch.

$$(\text{HCO}_3^-) = a \times 10^{-\text{pK}} \times \text{pCO}_2 \times 10^{\text{pH}}$$

a = coefficient de solubilité du CO_2

Valeurs normales : **22 à 26 mmol/l.**

Différentes méthodes, par méthode enzymologique ou potentiométrie sur automates effectuant l'ionogramme permettent de doser directement les bicarbonates (cf. chapitre 1 Équilibre hydroélectrolytique).

3.3.2. Bicarbonates standard

C'est la concentration plasmatique en bicarbonates (mmol/l) qu'aurait le sang de ce patient s'il était équilibré à une pCO_2 de 40 mmHg et à 37 °C.

Valeurs normales : **24 mmol/l ± 2 mmol/l.**

3.3.3. Concentration en CO_2 total

C'est la quantité totale de CO_2 plasmatique que ce spécimen possède. Elle correspond au CO_2 qui pourrait être extrait de ce plasma en présence d'un acide fort.

$$\text{CO}_2 \text{ total} = \text{apCO}_2 + \text{H}_2\text{CO}_3 + (\text{HCO}_3^-) + \text{CO}_2 \text{ combiné}$$

Valeurs normales : **25 mmol/l.**

3.3.4. Bases tampons

C'est la somme des concentrations en mmoles des anions tampons **d'un litre de sang total** [HCO_3^-], protéines, hémoglobine, phosphates].

Valeurs normales : **46 à 48 mmol/l.**

3.3.5. Excès de base

C'est la différence entre la valeur des bases tampons calculée du sujet étudié et celle des bases tampons d'un individu normal (47 mmol/l).

Valeurs normales : $0 \pm 2 \text{ mmol/l}$.

Même négative cette expression s'appelle « excès de base ».

3.3.6. Saturation en O_2

La majeure partie de l' O_2 sanguin est fixée sur l'hémoglobine.

La capacité en O_2 à l'état combiné du sang est la plus grande quantité d'oxygène qui peut être fixée par le pigment. Le contenu en O_2 est la quantité d'oxygène réellement fixée par l'hémoglobine.

Le rapport : Hb oxygénée/Hb oxygénable = Saturation en O_2 (SaO_2).

Valeurs normales : **95 à 98 %**.

3.4. Représentation graphique : diagramme de Davenport

De nombreux diagrammes ont été proposés pour aider à l'interprétation des résultats. L'un des plus classiques est celui de Davenport (figure 2.11).

Ce diagramme exprime la concentration des bicarbonates en fonction du pH.

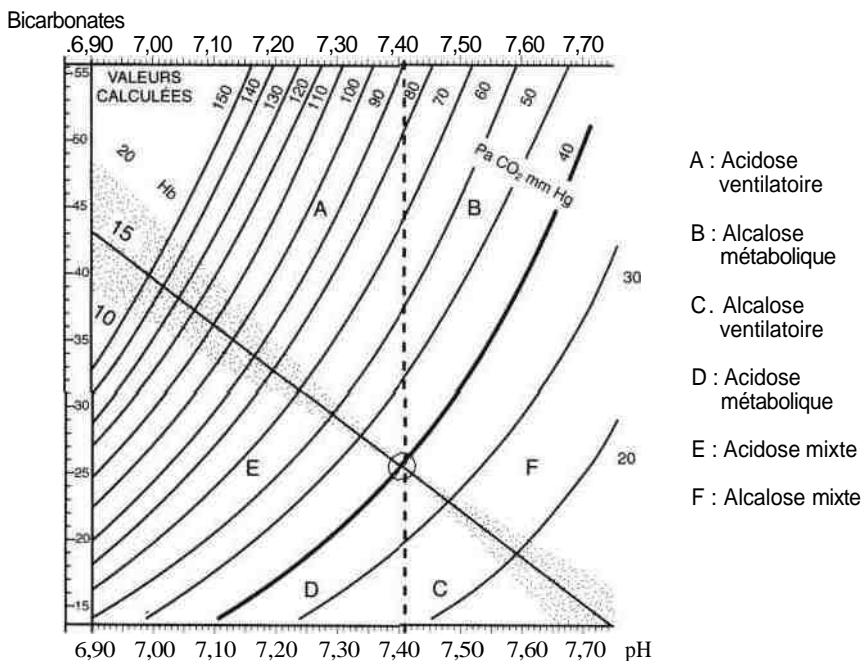


Figure 2.11 • Diagramme de Davenport.

Il existe 2 lignes importantes sur ce diagramme :

- **la ligne tampon normale** (ligne droite oblique) correspond aux différentes valeurs de la concentration en bicarbonates et de leur pH correspondant, d'un sang total équilibré à différentes pressions partielles de CO_2 ;

- **la ligne isobare $\text{pCO}_2 = 40 \text{ mm de Hg}$** est expérimentalement déterminée en calculant avec l'équation d'Henderson Hasselbaich le taux des bicarbonates en fonction de la valeur du pH pour une pCO_2 de 40 mm Hg.

Ces deux lignes définissent, avec la verticale du pH normal, 6 secteurs correspondant aux différentes perturbations rencontrées (A à F).

4. Déséquilibres acidobasiques

La connaissance de l'équation d'Henderson Hasselbaich rappelée ci-après :

$$\text{pH} = 6.1 + \log \frac{(\text{HCO}_3^-)}{\text{a} \times \text{pCO}_2}$$

permet de voir que le pH est directement lié à la valeur du rapport

$$\frac{(\text{HCO}_3^-)}{\text{a} \times \text{pCO}_2}$$

Les bicarbonates du numérateur sont **d'origine métabolique** et sont liés à la *fonction rénale*.

La pCO_2 du dénominateur est **d'origine respiratoire** et est liée à la *fonction pulmonaire*.

Les variations du pH peuvent être la conséquence :

- d'une **diminution des bicarbonates** responsable d'une *acidose métabolique* ;

- d'une **augmentation des bicarbonates** responsable d'une *alcalose métabolique* ;

- d'une **diminution de la pCO_2** responsable d'une *alcalose respiratoire* ;

- d'une **augmentation de la pCO_2** responsable d'une *acidose respiratoire*.

En cas de perturbation de la valeur du pH l'organisme met en jeu un système de compensation qui a pour but de ramener le rapport $\text{HCO}_3^-/\text{a} \times \text{pCO}_2$, à une valeur normale.

- En cas d'acidose métabolique la compensation se fera par une diminution de la pCO_2 .

- Une alcalose métabolique sera compensée par une augmentation de la pCO_2 .

- Une acidose respiratoire par une augmentation des bicarbonates.

- Une alcalose respiratoire par une diminution des bicarbonates.

Un pH qui est en dehors des valeurs de référence correspond à une perturbation décompensée.

Si malgré le déséquilibre acido-basique le pH est maintenu à l'intérieur des valeurs de référence on dira que la perturbation est compensée.

4.1. Acidose métabolique

Elle correspond à un trouble du métabolisme dû à l'accumulation d'acides (anions indosés ou trou anionique) ou à une perte excessive de bases.

Elle se caractérise par une diminution des bicarbonates plasmatiques et donc une baisse du pH.

4.1.1. Etiologies

Il s'agit habituellement de surcharges en acides avec augmentation du trou anionique.

Trou anionique : $(\text{Na}^+ + \text{K}^+) - (\text{Prot} + \text{Cl}^- + \text{CO}_3 \text{H}^- + 2) > 5 \text{ mEq/l}$.

Les surcharges en acides sont dans la plupart des cas d'origine endogène.

4.1.1.1. Augmentation des corps cétoniques

La cétonémie normale doit être inférieure à **0,6 mmol/l**.

- *L'acidocétose diabétique* est due à une production excessive de corps cétoniques (acide acétoacétique et acide (3-hydroxybutyrique) provoquée par l'utilisation hépatique d'un excès d'acétyl CoA provenant de l'oxydation des acides gras. L'abaissement du taux de HCO_3^- peut descendre jusqu'à 5 mmol/l avec une menace vitale immédiate. C'est le coma métabolique le plus fréquent.

- *Le jeûne prolongé* provoque aussi une augmentation des acides acétoacétique et (3-hydroxybutyrique).

4.1.1.2. Acidose lactique

Le taux normal d'acide lactique est de 1 à **1,7 mmol/l**.

Le taux normal de l'acide pyruvique est de **0,05 à 0,07 mmol/l**.

L'acidose lactique est la conséquence habituelle d'une anoxie cellulaire au cours des *états de choc sévère*. Elle peut être retrouvée dans le cadre d'une circulation extracorporelle. Elle est observée également en cas *d'exercice musculaire intense*, dans les *états de mal épileptique*, dans les *cirrhoses*, dans les *pancréatites*, les *leucoses aiguës*. Elle peut être d'origine toxique, à la suite de la prise de biguanides (traitement du diabète gras).

Les acidoses lactiques par défaut de certaines enzymes sont rares avec des

origines diverses (maladie de Von Gierke avec déficit en glucose 6 phosphatase, déficit en fructose diphosphatase, de glycogène synthétase... été).

4.1.1.3. Acidose rénale par atteinte rénale

Lorsque la clairance de la créatinine est inférieure à 0,5 ml/s, l'acidose est constante avec augmentation modérée des indosés anioniques. En cas d'hypovolémie l'insuffisance rénale fonctionnelle qui en résulte peut être responsable d'une acidose métabolique. La diminution de la filtration glomérulaire entraîne une rétention des acides produits par le catabolisme protidique.

4.1.1.4. Apports d'acides exogènes

On les observe au cours des intoxications :

- par l'éthylène glycol, le méthanol, les salicylés... ;
- par apport excessif de chlorure d'ammonium, de chlorhydrate d'arginine, de lysine ou de méthionine utilisés dans le traitement des alcaloses.

4.1.1.5. Pertes de bicarbonates

Elles peuvent résulter :

- De pertes par voie digestive, d'origine surtout iléale et colique (diarrhées profuses).
- De pertes par voie rénale :

Dans l'acidose tubulaire proximale avec urines riches en HCO_3^- il y a défaut de réabsorption du HCO_3^- au niveau du tubule proximal. Certains diurétiques tels que les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique (Acétazolamide) peuvent être responsables d'une acidose métabolique.

Dans l'acidose tubulaire distale il y a défaut de sécrétion distale d'ions H^+ .

4.1.2. Compensation physiologique

La compensation respiratoire, ayant pour but la baisse de la pCO_2 , intervient rapidement dans les minutes qui suivent. Elle est déclenchée par la baisse de pH notée par les chémorécepteurs périphériques qui provoquent une stimulation du centre respiratoire jusqu'à une réduction importante de pCO_2 :

La respiration qui en résulte a pour caractéristiques un rythme accéléré avec une amplitude augmentée et peut se traduire au maximum par la **respiration de Kussmaul** (respiration profonde et ample, égale aux deux temps et séparés par une pause : respiration en créneau).

La compensation respiratoire, bien que très efficace, reste partielle pour des raisons de limitations anatomiques, physiologiques et biochimiques (le travail musculaire lié à la respiration est lui-même générateur d'acides).

Dans ces conditions c'est le système tampon des bicarbonates qui est mis lar-

gement à contribution et il y a une baisse considérable de ceux-ci. Le rein va ainsi contribuer à ramener le pH vers les valeurs de référence.

La compensation rénale va se faire par l'augmentation de l'élimination des ions H^+ avec augmentation de l'acidité titrable de l'urine et de l'ammoniurie. Bien sûr le rein doit être fonctionnel.

En cas d'acidose métabolique intense, **au** cours d'un coma acido-cétosique par exemple, les possibilités d'élimination rénale des ions H^+ peuvent être dépassées et l'organisme perd des quantités importantes de sodium et de potassium (pas d'échange avec les ions H^+). De plus la perte hydrique caractéristique de ce syndrome entraîne une hypovolémie responsable d'une insuffisance rénale fonctionnelle qui va aggraver l'acidose.

4.1.3. *Tableau clinique*

Deux formes peuvent être différenciées :

- **les formes légères** qui sont soit asymptomatiques soit associées à une asthénie et des nausées.
- **les formes graves** qui présentent une hyperpnée avec respiration profonde (rythme de Kussmaul).

L'acidose peut aboutir à un état de choc, obnubilation et coma.

4.1.4. *Tableau biologique*

L'analyse des gaz du sang et du bilan électrolytique présente différentes perturbations :

- Le pH sanguin artériel $< 7,35$ sauf s'il y a compensation.
- Les bicarbonates sont très diminués : < 15 mmol/l.
- La pCO_2 et le CO_2 total sont très diminués du fait de la compensation.
- Un trou anionique est toujours présent dans les acidoses par perte de HCO_3^- . Il est très important dans l'acidocétose et l'acidose lactique.
- La kaliémie est augmentée par échanges cellulaire et rénal entre K^+ et H^+ ; ainsi un pH à 7,20 entraîne une kaliémie de 7 mmol/l.
- La kaliémie peut être normale dans l'acidose tubulaire proximale par perte rénale de K^+ ou au cours des diarrhées qui se traduisent par une perte digestive de K^+ .
- La compensation rénale est efficace s'il y a augmentation de l'acidité urinaire et des ions NH_4^+ .

Après décompensation la situation de l'état acido-basique du sujet apparaît dans le quadrant D inférieur gauche du diagramme de Davenport.

4.1.5. *Traitement*

Le traitement est étiologique.

La réanimation d'une acidose s'effectue le plus souvent dans le cadre de l'urgence avec perfusion d'alcalinisants et hydratation, et si nécessaire épuration extra-rénale.

4.2. Acidose respiratoire

Elle correspond à une diminution de l'élimination du CO_2 avec **augmentation de la pCO_2** (hypercapnie) et diminution du pH sanguin.

4.2.1. Étiologies

4.2.1.1. Diminution des mouvements de la cage thoracique

Les principales causes sont :

- une atteinte de la paroi par des traumatismes ;
- une atteinte nerveuse ou musculaire par dystrophies musculaires, myasthénie, poliomyélite ou curarisants.

4.2.1.2. Diminution de la surface alvéolaire disponible

Les pathologies au cours desquelles cette diminution peut être rencontrée sont les suivantes :

- les *bronchopneumopathies chroniques* obstructives **par emphysème ou asthme** ;
- les *bronchopneumopathies restrictives* par fibrose pleurale ou pulmonaire, pneumothorax ou œdème aigu du poumon ;
- la *mucoviscidose* dans laquelle est retrouvée une dilatation des bronches avec hypersécrétion bronchique.

4.2.1.3. Hypoventilation par inhibition des centres respiratoires

Dans ce cadre sont retrouvés :

- un accident vasculaire cérébral ;
- une hypotension intracrânienne ;
- une atteinte bulbaire par anesthésiques, morphiniques, tranquillisants, barbituriques ou alcool.

4.2.1.4. Air vicié par augmentation du CO_2 (caves, grottes...)

4.2.1.5. Insuffisance respiratoire aiguë avec hypoxémie aiguë et détresse respiratoire (cause toxique, médicamenteuse, traumatique).

Il est important de distinguer le caractère aigu ou chronique des acidoses respiratoires.

4.2.2. Compensation physiologique

La compensation sera rénale par une augmentation de la réabsorption des bicarbonates et élimination des ions H^+ (l'augmentation de la pCCL augmente la

concentration d'acide carbonique générateur d'ions H^{+}). Ce mécanisme ayant une inertie relativement importante l'augmentation des bicarbonates n'apparaît qu'au bout de quelques jours, permettant de faire la différence entre une acidose respiratoire aiguë à bicarbonates normaux et une acidose chronique à bicarbonates augmentés.

Dans ces conditions la compensation est lente mais efficace.

Si le taux des bicarbonates ne peut suivre l'élévation de la pCO_2 le pH diminue et l'acidose est décompensée. Les acidoses aiguës sont assez mal compensées alors que les acidoses chroniques sont bien compensées.

4.2.3. *Tableau clinique*

Le patient présente des céphalées, une cyanose lorsqu'il y a hypoxie associée, une confusion, une somnolence pouvant aboutir à un coma. L'acidose est grave dans les formes aiguës où l'augmentation de la pCO_2 est mal compensée avec chute brutale du pH,

1

4.2.4. *Tableau biologique*

Les examens sanguins et urinaires montrent :

- Un pH artériel d'autant plus diminué que l'atteinte est aiguë,
- Une pCO_2 augmentée.
- Des bicarbonates augmentés et des chlorures abaissés.
- Une pO_2 très diminuée.

La pO_2 basse est un signe d'insuffisance respiratoire plus discriminant que l'augmentation de la pCO_2 . En effet, le CO_2 diffuse beaucoup mieux à travers la membrane alvéolocapillaire et certaines insuffisances respiratoires ont une pCO_2 normale mais une pO_2 diminuée.

- Le pH urinaire est très diminué et l'ammoniurie augmentée si le rein compense.

Après décompensation la situation de l'état acidobasique du sujet apparaît dans le quadrant supérieur gauche A du diagramme de Davenport.

4.2.5. *Traitement*

Des analeptiques respiratoires peuvent être prescrits associés ou non à une ventilation assistée. Une trachéotomie peut parfois être pratiquée.

L'oxygénothérapie est à administrer avec précaution chez les insuffisants respiratoires car la stimulation centrale due à l'hypercapnie est alors diminuée.

Les inhibiteurs de l'anhydrase carbonique (acétazolamide), qui s'opposent à la réabsorption de HCO_3^- , sont dangereux car ils entraînent une décompensation rapide chez l'insuffisant respiratoire.

4.3. Alcalose métabolique

Elle est peu fréquente. Elle est due à une alcalinisation provoquée par un **excès de bicarbonates** ou **une perte d'ions H^{+}** .

4.3.1. Étiologies

4.3.1.1. Pertes digestives d'ions H^{+}

Elles sont provoquées :

- *par des vomissements* dus à une sténose du pylore ou à une obstruction au niveau du grêle proximal (occlusion) ;
- *par une aspiration gastrique*.

4.3.1.2. Pertes rénales d'ions-ff'

Elles sont la conséquence :

- *d'une déplétion chlorurée* par utilisation de certains diurétiques (Furosémide). Ceux-ci inhibent la réabsorption des chlorures au niveau de l'anse de Henlé. Cette inhibition a pour conséquence une non réabsorption du sodium à ce niveau (maintien de l'équilibre anions-cations). L'afflux de sodium au niveau du tubule rénal entraîne sa réabsorption éliminant des ions H^{+} et des ions K^{+++} ;
- *de certains hypercorticismes* :
dans le cadre d'un syndrome de Cushing primitif ou iatrogène ;
dans l'hyperaldostéronisme primitif (syndrome de Conn) ou secondaire ;
- *de l'ingestion excessive de substances à effet minéralocorticoïde* (acide glycyrrhizique de la réglisse).

4.3.1.3. Charges en alcalins supérieures aux possibilités d'excrétion rénale

Elles sont rencontrées au cours de certains traitements (apport excessif de bicarbonates) ou de régimes particuliers (buveurs de lait, régimes végétariens).

4.3.2. Compensation physiologique

La compensation va se faire par une augmentation de la pCO_2 par dépression des centres respiratoires (hypoventilation).

Il y aura diminution des échanges respiratoires et normalisation du pH.

Lorsque les bicarbonates deviennent supérieurs à 30 mmol/l, les urines deviennent alcalines. C'est la participation rénale à la compensation par diminution de la réabsorption des bicarbonates et de la production de NH_4^{+} .

4.3.3. Tableau clinique

Le patient présente une respiration lente et superficielle associée à une hyperexcitabilité neuromusculaire due à l'hypocalcémie ionisée. Rappelons qu'en cas d'alcalose le calcium ionisé se fixe en plus grande quantité sur les protéines.

4.3.4. Tableau biologique

Les dosages sanguins et urinaires montrent :

- un pH sanguin artériel augmenté mais rapidement et partiellement compensé ;
- une $p\text{CO}_2$ augmentée ;
- des bicarbonates augmentés à plus de 30 mmol/l ;
- une $p\text{O}_2$ diminuée ;
- une hypokaliémie ;
- un pH urinaire qui peut être augmenté.

Après décompensation la situation de l'état acidobasique du sujet apparaît dans le quadrant supérieur droit B du diagramme de Davenport.

4.3.5. Traitement

Il est avant tout étiologique. La réanimation visera à :

- éliminer facilement les bicarbonates sous perfusion,
- corriger l'hypokaliémie.

4.4. Alcalose respiratoire

Elle correspond à une **diminution de la $p\text{CO}_2$** (hypocapnie) dont l'origine est respiratoire.

4.4.1. Étiologie

L'alcalose respiratoire est habituellement due à une **hyperventilation** et parfois à un abaissement de la pression partielle en O_2 .

Les différentes causes sont :

- *une anxiété ou une douleur violente* ;
- *l'hyperventilation d'origine centrale* : **affections du système nerveux central** ;
- *l'hyperventilation d'origine hypoxique* : on sépare deux types d'hypocapnies hypoxiques par l'étude de la SaO_2 et de la $p\text{O}_2$.

Le plus fréquent est dit anoxémique et est la conséquence d'une respiration en atmosphère raréfiée ou d'une diminution des échanges respiratoires par lésions pulmonaires étendues. Dans les deux cas la $p\text{O}_2$ est très diminuée.

Le deuxième mécanisme est dit anémique et correspond à la perte du pouvoir

oxyphorique de l'hémoglobine (possibilité de transporter l'oxygène). La pO_2 est augmentée et ceci est secondaire à une anémie ou à une intoxication par l'oxyde de carbone (CO) ;

- *l'hyperventilation mécanique* : ventilation artificielle mal contrôlée.

4.4.2. Compensation physiologique

Le pH est augmenté car la pCO_2 est diminuée avec des bicarbonates normaux.

Le rein intervient en diminuant la réabsorption des bicarbonates.

Le pH redevient normal avec des bicarbonates diminués et une pCO_2 diminuée. Les échanges entre Na^+ et H^{11n} sont ralentis et les urines deviennent alcalines. Les bicarbonates plasmatiques sont remplacés par des chlorures.

Ces modifications ne sont mises en place que lors des troubles chroniques.

4.4.3. Tableau clinique

Il y a une **hyperventilation** souvent évidente dans les états d'anxiété (spasmodophilie) mais qui peut être inapparente si la respiration est profonde. L'irritabilité, les paresthésies et parfois des crises de tétanie ou des convulsions sont entretenues par l'alcalose et l'hyperpnée volontaire.

Le « **mal des montagnes** » se caractérise, lors de séjours en haute altitude, par des céphalées, une insomnie, des nausées et des vomissements, et éventuellement un œdème aigu pulmonaire.

4.3.4. Tableau biologique

Il associe les éléments suivants :

- un pH artériel augmenté,
- une pCO_2 diminuée,
- une diminution des bicarbonates associée à une augmentation des chlorures qui traduisent la compensation rénale ;
- l'urine devient alcaline avec une forte augmentation des bicarbonates et du Na^+ .

Après décompensation la situation de l'état acidobasique du sujet apparaît dans le quadrant inférieur droit C du diagramme de Davenport.

4.5. Syndromes mixtes

Il s'agit le plus souvent d'acidoses. Schématiquement, il en existe deux types suivant que l'agression initiale est métabolique ou respiratoire.

1^{er} cas : elle survient chez une personne présentant une acidose métabolique partiellement compensée par une hypocapnie et chez qui survient un trouble ventilatoire : la pCO_2 s'élève et le pH chute.

Le tableau biologique montre un pH bas avec des bicarbonates bas et une $p\text{CO}_2$ élevée.

2^e cas : chez un insuffisant respiratoire, hypercapnique, victime d'une insuffisance rénale l'empêchant de réabsorber correctement les bicarbonates.

Ce sont des sujets dont la situation sur le diagramme de Davenport se trouve dans le cadran E.

5. Conclusion

Le bilan acidobasique complet implique aujourd'hui **l'association des mesures de la $p\text{CO}_2$ de la $p\text{O}_2$ et du pH**, avec appréciation de la saturation en oxygène. L'ensemble forme dans le jargon médical la « **gazométrie** ».

En raison de la fréquence des perturbations de l'équilibre acidobasique en pathologie, le suivi biologique des malades est indispensable afin d'assurer rapidement une correction thérapeutique.

Les appareils modernes associent souvent à la mesure des gaz du sang d'autres électrodes de mesure pour le sodium, le potassium, le chlorure, le calcium ionisé et effectuent en plus un dosage de l'hémoglobine. Ils ont ainsi considérablement simplifié la tâche des techniciens de laboratoire et apportent au clinicien un maximum d'informations biologiques contribuant à une meilleure réanimation des patients.

Références bibliographiques

- P. Metais et al. *Biochimie clinique*. Tomes 1 et 2, 2^e édition, Simep, Paris, 1990.
- M. Essig, G. Friedlander. *Troubles de l'équilibre acidobasique*. *La revue du Praticien*, 1997,47,1607-1615.
- B.A. Shapiro, R.A. Harrison, R.D. Cane, R. Templin. *Gaz du sang. Applications cliniques*. Ed. Frison-Roche, Paris, 1992.