

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE.

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA 1 -



FACULTE DE MEDECINE.

DEPARTEMENT DE PHARMACIE.

# Etude de l'impact de l'hémolyse sur dix-sept paramètres biochimiques

Présentée en vue de l'obtention du diplôme de docteur en pharmacie

Session : juillet 2018.

## Présentée par :

- EL HADJ TAHAR Abdelfettah.
- REMIDI Nacer.
- IRVIN Mutum.

## Promotrice :

- Dr Bennouar S, maitre assistante en biochimie, Hôpital Frantz Fanon  
CHU Blida.

## Devant le jury :

- Présidente : Pr. ABDI S, professeur en biochimie, *chef de service de laboratoire central*, Hôpital Frantz Fanon CHU Blida.
- Examineur : Dr Lamri M. A, maitre-assistant en biochimie, CPMC Alger.
- Examineur : Dr Meharhera.S maitre assistante en biochimie, Hôpital Frantz Fanon CHU Blida.
- Examineur : Dr Hamel.H maitre assistante en hémobiologie, Hôpital Frantz Fanon CHU Blida.

## **ENGAGEMENT DE NON PLAGIAT**

Je, soussigné EL HADJ TAHAR Abdelfettah déclare être pleinement conscient que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sur toutes formes de support, y compris l'internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire.

# *Remerciements*

*Tout d'abord, nous tenons à remercier **Dieu**, De nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation et pouvoir réaliser ce travail.*

*Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à notre promotrice docteur **Bennouar S** qui nous a fourni le sujet de ce mémoire et nous a guidés de ses précieux conseils et suggestions, et la confiance qu'il nous a témoignés tout au long de ce travail.*

*Nous tenons à vous remercier chaleureusement **Pr. ABDI S**, pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence de ce jury, veuillez trouver ici nos profondes reconnaissances.*

*Nous tenons à gratifier aussi les membres de jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail.*

*Je remercie mes tés chers parents, qui m'ont toujours accompagné dans mes études et n'ont cessé de me témoigner soutien, patience et compréhension durant toutes ces années ;*

*Nous tenons également à remercier les résidentes en biochimie **Assem B** et **Mohammed Belkbir N E** qui ont pris part à cette étude pour le temps qu'elles nous ont accordé.*

*Enfin, on adresse nos sincères sentiments de gratitude et de reconnaissances à toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail*

## TABLEAU DES MATIERES

LISTE DES FIGURES.....	i
LISTE DES TABLEAUX.....	iii
LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	vi
INTRODUCTION.....	1
<b><u>PARTIE THEORIQUE</u></b> .....	<b>2</b>
<b><u>Chapitre 01 : L'importance de la qualité au laboratoire d'analyse médicale</u></b> .....	<b>3</b>
1. Définition de la qualité.....	4
2. Définition d'une erreur.....	4
2.1 Les conséquences négatives d'une erreur de laboratoire.....	4
2.2 Minimiser les erreurs au laboratoire.....	5
3. Système de gestion de la qualité.....	5
3.1 Le processus d'analyse en laboratoire.....	5
3.2 Complexité des processus de laboratoire.....	6
3.3 Cheminement du spécimen.....	6
<b><u>Chapitre 02 : La phase pré-analytique</u></b> .....	<b>7</b>
1- Définition de la phase pré-analytique.....	8
2- Facteurs intervenant dans le processus pré-analytique. ....	9
3. Facteurs influençant le processus pré-analytique. ....	9
3.1 Facteurs d'influence liés au patient.....	9
3.2 Facteurs d'influence liés aux erreurs (Principales erreurs pré-analytiques)..	11
3.3. Erreurs fréquentes lors de traitement des échantillons avant l'analyse .....	12
4. Importance de la phase pré analytique.....	14
<b><u>Chapitre 03 : Hémolyse</u></b> .....	<b>15</b>
1. Définition : .....	16
2. Cause de l'hémolyse .....	16
2.1. Causes d hémolyse in vivo.....	16
2.2. Causes d hémolyse in vitro.....	17
3. Mécanismes d'interférence .....	19
<b>PARTIE PRATIQUE</b> .....	<b>22</b>

1. Objectif .....	23
2. Matériel et méthodes .....	24
2.1. Type de l'étude.....	24
2.2 Critères de non-inclusion.....	24
2.2. Protocole de l'étude expérimentale .....	24
2.3. Instrumentation : .....	26
2.4. Paramètres étudiés.....	26
2.5. Méthodes de dosage .....	26
2.6 Analyse statistique.....	32
<u>Résultats</u> .....	34
1. Analyse quantitative des résultats du questionnaire .....	35
1.1. Répartition des enquêtés en fonction de la formation.....	36
1.2. Répartition des enquêtés selon l'ancienneté. ....	35
1.3. Répartition des enquêtés selon la connaissance sur la phase pré-analytique.....	35
1.4. Répartition des enquêtés selon les manipulations pré-analytique. ....	37
2. Interférence de l'hémolyse sur l'activité d'ASAT.....	38
3. Interférence de l'hémolyse sur l'activité d'ALAT.....	41
4. Interférence de l'hémolyse sur l'activité de LDH .....	44
5. Interférence de l'hémolyse sur l'activité de CPK.....	47
6. Interférence de l'hémolyse sur l'activité de GGT.....	50
7. Interférence de l'hémolyse sur l'activité de PAL .....	53
8. Interférence de l'hémolyse sur le dosage de la glycémie.....	56
9. Interférence de l'hémolyse sur le dosage de l'urée sanguine .....	59
10. Interférence de l'hémolyse sur le dosage de créatininémie .....	62
11. Interférence de l'hémolyse sur le dosage de cholestérol totale.....	65
12. Interférence de l'hémolyse sur le dosage de triglycéride .....	68
13. Interférence de l'hémolyse sur le dosage du phosphore .....	71
14. Interférence de l'hémolyse sur le dosage du calcium.....	74
15. Interférence de l'hémolyse sur le dosage du magnésium .....	77

16. Interférence de l'hémolyse sur le dosage de l'acide urique .....	80
17. Interférence de l'hémolyse sur le dosage de sodium .....	83
18. Interférence de l'hémolyse sur le dosage de potassium .....	86
Discussion.....	90
Conclusion.....	97
Bibliographie.....	99
Annexes.....	103
Résumé.....	109

## LISTE DES FIGURES

**Figure 1 :** Schéma montre le moment idéal pour la détermination des niveaux médicamenteux.

**Figure 2 :** schéma détaillant les étapes pré-analytique ainsi que les erreurs qui peuvent s'installer lors de chaque étape.

**Figure 3:** Pic d'absorbance de l'hémoglobine et de l'oxyhémoglobine.

**Figure 4 :** Différents degrés de sérum hémolysé réalisés par expérience d'hémolyse contrôlée in vitro.

**Figure 5 :** Représentation graphique des résultats de dosage de l'ASAT en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 6 :** regression linéaire entre la variation de l'activité enzymatique de l'ASAT (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 7 :** Représentation graphique des résultats de dosage de l'ALAT en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 8 :** regression linéaire entre la variation de l'activité enzymatique de l'ALAT (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 9 :** Représentation graphique des résultats de dosage de la LDH en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 10 :** regression linéaire entre la variation de l'activité enzymatique de la LDH (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 11:** Représentation graphique des résultats de dosage de la CPK en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 12 :** regression linéaire entre la variation de l'activité enzymatique de la CPK (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 13 :** Représentation graphique des résultats de dosage de la GGT en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 14 :** regression linéaire entre la variation de l'activité enzymatique de la GGT (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 15 :** Représentation graphique des résultats de dosage de la PAL en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 16 :** regression linéaire entre la variation de l'activité enzymatique de la PAL (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 17 :** Représentation graphique des résultats de dosage du glucose en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 18 :** regression linéaire entre la variation de la concentration de glucose (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 19 :** Représentation graphique des résultats de dosage de l'urée en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 20 :** regression linéaire entre la variation de la concentration de l'urée (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 21 :** Représentation graphique des résultats de dosage de la créatinine en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 22 :** regression linéaire entre la variation de la concentration de la créatinie (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 23 :** Représentation graphique des résultats de dosage du cholestérol total en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 24 :** regression linéaire entre la variation de la concentration du cholestérol total (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 25 :** Représentation graphique des résultats de dosage du triglycérides en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 26 :** regression linéaire entre la variation de la concentration du triglyceride (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 27 :** Représentation graphique des résultats de dosage du phosphore en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 28 :** regression linéaire entre la variation de la concentration de phosphore (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 29 :** Représentation graphique des résultats de dosage du calcium en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 30 :** regression linéaire entre la variation de la concentration du calcium (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 31 :** Représentation graphique des résultats de dosage du magnésium en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 32 :** regression linéaire entre la variation de la concentration du magnesium (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 33 :** Représentation graphique des résultats de dosage de l'acide urique en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 34 :** Regression linéaire entre la variation de la concentration de l'acide urique (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 35 :** Représentation graphique des résultats de dosage du sodium en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 36 :** regression linéaire entre la variation de la concentration du sodium (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 37 :** Représentation graphique des résultats de dosage du potassium en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 38 :** regression linéaire entre la variation de la concentration du potassium (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

**Figure 39.** Questionnaire d'évaluation la qualité de la phase pré-analytique des examens de laboratoire au niveau des laboratoires biologique de l'hôpital Frantz Fanon Blida -2018-

**Figure 40 :** Représentation graphique des résultats de dosage de la LDH ,l'ASAT et l'ALAT en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

**Figure 41:** les recommandations de l'IFCC pour le dosage des transaminases.

**Figure 42:** Représentation graphique des résultats de dosage des transaminases avec le phosphore (notre étude).

**Figure 43:** Représentation graphique des résultats de dosage des transaminases avec le phosphore (Giuseppe Lippi 2006).

**Figure 44:** Représentation graphique des résultats de dosage des transaminases avec le phosphore (Damien et al).

## LISTE DES TABLEAUX

**Tableau 1 :** Activités pendant et après la phase pré-analytique et personnel responsable.

**Tableau 2 :** tableau de dilution pour la préparation d'une gamme de concentration du sérum en hémoglobine.

**Tableau 3 :** Répartition des enquêtés en fonction de la formation.

**Tableau 4 :** Répartition des enquêtés selon l'ancienneté.

**Tableau 5 :** Répartition des enquêtés selon la connaissance sur l'influence de la phase pré-analytique .

**Tableau 6 :** Répartition des enquêtés selon la connaissance sur l'influence de l'aspect du sérum sur le dosage biochimique.

**Tableau 7 :** Répartition des enquêtés selon la connaissance des paramètres influences par l'hémolyse.

**Tableau 8:** Répartition des enquêtés selon la conduite à tenir devant un échantillon hémolysé.

**Tableau 9 :** Répartition des enquêté selon la durée de pose de garrot.

**Tableau 10:** Répartition des enquêté selon le nombre de retournement des tubes après le remplissage.

**Tableau 11:** : résultat de test de Friedman concernant les activité enzymatique d'ASAT avant et après l'hémolyse.

**Tableau 12 :** : résultat de test de t Student apparié concernant les activité enzymatique d'ASAT avant et après l'hémolyse.

**Tableau 13:** : résultat de test de Friedman concernant les activité enzymatique de l'ALAT avant et après l'hémolyse.

**Tableau 14 :** : résultat de test de t Student et Wilcoxon appariés concernant les activités enzymatiques de l'ALAT avant et après l'hémolyse.

**Tableau 15:** : résultat de test de Friedman concernant les activité enzymatique de la LDH avant et après l'hémolyse.

**Tableau 16 :** : résultat de test de Wilcoxon apparié concernant les activités enzymatiques de la LDH avant et après l'hémolyse.

**Tableau 17:** : résultat de test de Friedman concernant les activité enzymatique la CPK avant et après l'hémolyse.

**Tableau 18 :** : résultat de test de t Student apparié concernant les activité enzymatique la CPK avant et après l'hémolyse

**Tableau 19:** : résultat de test de Friedman concernant les activité enzymatique de la GGT avant et après l'hémolyse.

**Tableau 20 :** : résultat de test de t Student apparié concernant les activité enzymatique de la GGT avant et après l'hémolyse

**Tableau 21:** : résultat de test de Friedman concernant l'activité enzymatique de la PAL avant et après l'hémolyse.

**Tableau 22 :** résultat de test de Wicoxon apparié concernant la l'activité enzymatique de la PAL avant et après l'hémolyse.

**Tableau 23 :** résultat de test de Friedman concernant la concentration de glucose avant et après l'hémolyse.

**Tableau 24 :** : résultat de test de t Student apparié concernant la concentration de glucose avant et après l'hémolyse

**Tableau 25:** : résultat de test de Friedman concernant la concentration de l'urée avant et après l'hémolyse..

**Tableau 26 :** résultat de test de t Student apparié concernant la concentration de l'urée avant et après l'hémolyse

**Tableau 27:** : résultat de test de Friedman concernant la concentration de la créatinine avant et après l'hémolyse..

**Tableau 28 :** résultat de test de t Student apparié concernant la concentration de la créatinine avant et après l'hémolyse

**Tableau 29:** : résultat de test de Friedman concernant la concentration du cholesterol total avant et après l'hémolyse..

**Tableau 30 :** résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant la concentration de cholesterol total avant et après l'hémolyse.

**Tableau 31:** : résultat de test de Friedman concernant la concentration du triglycerise avant et après l'hémolyse..

**Tableau 32 :** résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant la concentration de triglyceride avant et après l'hémolyse.

**Tableau 33:** : résultat de test de Friedman concernant la concentration de phosphore avant et après l'hémolyse..

**Tableau 34 :** résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant la concentration de phosphore avant et après l'hémolyse.

**Tableau 35:** : résultat de test de Friedman concernant la concentration de du calcium avant et après l'hémolyse..

**Tableau 36 :** résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant la concentration de calcium avant et après l'hémolyse.

**Tableau 37 :** résultat de test de Friedman concernant la concentration du magnésium avant et après l'hémolyse.

**Tableau 38:** : : résultat de test de t Student et Wilcoxon appariés concernant la concentration du magnésium avant et après l'hémolyse

**Tableau 39 :** résultat de test de Friedman concernant la concentration de l'acide urique avant et après l'hémolyse

**Tableau 40:** : résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant la concentration d'acide urique avant et après l'hémolyse.

**Tableau 41 :** : résultat de test de Friedman concernant la concentration du sodium avant et après l'hémolyse

**Tableau 42:** : résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant la concentration de sodium avant et après l'hémolyse.

**Tableau 43 :** : résultat de test de Friedman concernant la concentration du potassium avant et après l'hémolyse.

**Tableau 44:** : résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant la concentration de potassium avant et après l'hémolyse.

**Tableau 45 :** tableau récapitulatif des résultats de l'Influence de l'hémolyse sur 17 paramètres biochimique.

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

- IFCC** : The International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
- OMS** : L'Organisation mondiale de la Santé
- ASAT** Aspartate aminotransferase
- ALAT** : Alanine aminotransferase
- LDH**: Lacate déshydrogenase
- CPK** : Créatine phosphokinase
- PAL** : Phosphatase alcaline
- GGT** : Gamma glutamyl transferase
- Na+** : Sodium
- K+** : Potassium
- Ca<sup>2+</sup>** : Calcium
- Mg<sup>2+</sup>** : Magnésium
- Hb** : Hémoglobine
- CRE** :Créatinine
- UR** : Urée
- GLU** : Glucose
- CT** : Cholesterol total
- TG**: Triglycerides
- AUR** : Acide urique
- Ca** : Calcium
- P** : Phosphore
- Mg** : magnésium

# Introduction

Le laboratoire d'analyse biologique joue un rôle essentiel dans la prestation des soins aux patients hospitalisés. On estime que 60 à 70% de toutes les décisions cliniques majeures, comme la thérapie, l'admission ou la sortie, sont influencées par le laboratoire d'analyse biologique, par conséquent, les échecs des tests de laboratoire peuvent avoir des effets significatifs et potentiellement dangereux sur les patients.

Les analyses de Biochimie Générale sont parmi les plus prescrites, elles sont réalisées dans les bilans biologiques de routine et sont également indispensables dans les contextes d'urgence.

Cette discipline évolue actuellement à différents niveaux : structures et fonctionnement du laboratoire, automatisation et robotisation des phases pré-analytiques et analytiques, assurance et management de la qualité, responsabilité du biologiste au sein de l'équipe médicale. Ces évolutions doivent également contribuer à accroître constamment la précision, la justesse et la reproductibilité des dosages.

L'ensemble de ces progrès n'a pourtant pas permis de s'affranchir d'éventuelles erreurs.

Ainsi la mesure de certains paramètres sur des échantillons hémolysés, peut entraîner un résultat erroné conduisant à de mauvaises interprétations, un mauvais diagnostic, la répétition des analyses et une prise en charge inappropriée du patient.

Actuellement les erreurs totales survenant en médecine de laboratoire, surviennent au cours de la phase pré analytique

L'hémolyse est l'une des non-conformités pré-analytiques les plus fréquentes observées dans les laboratoires d'analyses biologique ; cela peut conduire à des résultats erronés, affecter potentiellement l'interprétation des résultats des tests de laboratoire, puis les soins aux patients.

# PARTIE THEORIQUE

## **CHAPITRE I**

# **Importance de la qualité au laboratoire d'analyse médicale**

## **1. Définition de la qualité**

En 1987, l'Organisation Mondiale de la Santé a défini la qualité dans les établissements de santé comme « une démarche qui doit permettre de garantir à chaque patient l'assortiment d'actes diagnostiques et thérapeutiques qui leur assurera le meilleur résultat en termes de santé, conformément à l'état actuel de la science médicale, au meilleur coût pour un même résultat, au moindre risque iatrogénique, et pour sa grande satisfaction, en termes de procédures, de résultats et de contacts humains à l'intérieur du système de soins ».

De manière générale, la qualité a pu avoir plusieurs définitions à savoir « l'aptitude à l'usage », « la conformité aux spécifications » ou encore « l'aptitude à satisfaire le client » selon **Juran, 1988**. Il existe maintenant des définitions internationales normalisées admises et reconnues par l'ensemble des professionnels.

## **2. Définition d'une erreur**

La prévention des erreurs médicales est un des enjeux majeurs de la prise en charge des patients.

L'erreur totale analytique se définit comme la différence entre la valeur mesurée d'une grandeur et sa valeur vraie. C'est la somme de l'erreur systématique (erreur de justesse) et de l'erreur aléatoire (défaut de fidélité). En biologie médicale, la valeur vraie n'étant généralement pas connue on préfère exprimer la variabilité totale des résultats d'une méthode à l'aide de l'incertitude de mesure. [3,4]

L'erreur totale quant à elle correspond à l'erreur totale analytique complétée par tous les éléments de l'analyse de risque portant sur l'ensemble du processus depuis la prescription jusqu'à l'utilisation du résultat. Tous ces éléments qui peuvent ne pas être quantifiables, s'ajoutent à l'erreur totale analytique.

Outre la sensibilité et la spécificité des méthodes d'analyse, les fabricants de trousse diagnostiques et de kits réactifs fournissent des informations concernant la sensibilité de leurs produits aux principales interférences. Ces informations peuvent être plus ou moins détaillées et dans le meilleur des cas elles prennent la forme d'un index ou seuil à partir duquel le résultat est potentiellement faussé.

### **2.1 Les conséquences négatives d'une erreur de laboratoire**

Les laboratoires produisent des résultats d'analyses qui sont largement utilisés à des fins cliniques ou de santé publique, et les bénéfices pour la santé dépendent de la justesse de ces analyses et du rendu des résultats. [2].

Si des résultats inexacts sont rendus, les conséquences peuvent être très graves

- Traitements inutiles ; complications du traitement.
- Traitement inapproprié.
- Retard dans l'établissement d'un diagnostic correct.
- Analyses supplémentaires et inutiles.

Ces conséquences entraînent une augmentation en coût, en temps, en ressources humaines et n'apportent aucun bénéfice au patient.

## **2.2 Minimiser les erreurs au laboratoire**

Dans le but d'atteindre le plus haut niveau d'exactitude et de fiabilité, il est essentiel d'exécuter tous les processus et les procédures au laboratoire de la meilleure façon possible. Le laboratoire est un système complexe, impliquant beaucoup d'étapes dans la réalisation des activités ainsi qu'un grand nombre de personnes. La complexité du système exige que tous les processus et procédures soient exécutés correctement. Par conséquent, un modèle de système de gestion de la qualité englobant le système dans son ensemble est primordial afin d'assurer un bon fonctionnement du laboratoire. [3]

## **3. Système de gestion de la qualité**

Un système de gestion de la qualité peut être défini comme les « actions coordonnées dirigeant et contrôlant les activités d'une organisation vis-à-vis de la qualité ». [4]

Cette définition est celle utilisée par l'International Organization for Standardization (ISO) et par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Ces deux groupes sont internationalement reconnus comme des organisations de normalisation pour les laboratoires.

### **3.1 Le processus d'analyse en laboratoire**

Les standards ISO regroupent les processus dans les catégories « pré-examination », « examination » et « post examination ». [5]

Des termes comparables sont employés dans l'usage courant : processus pré analytiques, analytiques, et post analytiques.

Chaque catégorie peut être subdivisée en une série de processus qui se chevauchent et sont liés entre eux et qui peuvent à leur tour être séparés en une séquence d'étapes de processus.

Chaque étape représente un point unique où une erreur peut survenir.

**La phase pré-analytique** série d'étapes commençant chronologiquement par la prescription des analyses par le clinicien, comprenant la demande d'analyse, la préparation du patient, le prélèvement du spécimen, l'acheminement jusqu'au laboratoire, le stockage et la centrifugation au sein du laboratoire, et finissant au début de la procédure analytique

**La phase analytique** série d'étapes permettant l'obtention d'un résultat lors de l'analyse de l'échantillon

**La phase post-analytique** série d'étapes après l'analyse comprenant la transcription du résultat, la validation et la transmission du rapport, jusqu'à l'interprétation par le médecin

### **3.2 Complexité des processus de laboratoire**

De nombreuses procédures et méthodes sont mises en œuvre dans un laboratoire et chacune d'entre elles doit être exécutée correctement afin d'assurer la justesse et la fiabilité des analyses.

Une erreur survenant dans n'importe quelle partie du cycle peut entraîner un résultat de laboratoire médiocre. Une méthode détectant les erreurs à chaque phase de l'analyse est nécessaire pour s'assurer de la qualité.

La complexité du système du laboratoire exige que de nombreux facteurs soient pris en compte pour assurer la qualité au laboratoire.

Certains de ces facteurs comprennent :

- L'environnement du laboratoire.
- Les procédures de contrôle qualité.
- Les communications.
- L'archivage.
- Du personnel compétent et bien informé.
- Des réactifs et du matériel de bonne qualité.

### **3.3 Cheminement du spécimen**

L'ensemble des activités qui ont lieu lors des analyses est appelé le cheminement du spécimen.

Le cheminement du spécimen commence avec le patient et se termine par le rendu des résultats et leur interprétation.

Le concept de cheminement du spécimen est un élément clé pour le modèle qualité ou pour le système de gestion de la qualité, et doit être pris en compte lorsque des pratiques qualité sont développées.

Par exemple, un échantillon qui est abîmé ou modifié, suite à un mauvais prélèvement ou transport, ne pourra pas fournir un résultat fiable.

Le rendu des résultats en retard, un compte-rendu perdu ou mal écrit, peut réduire à zéro tous les efforts d'obtention d'un test bien réalisé [5]

## **CHAPITRE II**

# **La phase pré-analytique**

La phase pré-analytique est aujourd'hui reconnue comme la partie la plus vulnérable du processus des analyses biologiques.

En raison de leur impact sur la qualité des résultats des tests de laboratoire, les erreurs pré-analytiques ont été incluses dans les plus grands défis pour les professionnels de laboratoire.

### **1- Définition de la phase pré-analytique**

Cette phase complexe recouvre l'ensemble des étapes déterminantes qui influencent un échantillon avant son analyse.

Elle se déroule depuis le contact avec le patient jusqu'à la prise en charge des échantillons par un technicien pour la réalisation proprement dite de l'analyse.

Elle comprend notamment la prescription d'examen par la personne habilitée à prescrire, la préparation du patient, le prélèvement, le traitement préalable, le stockage et le transport de l'échantillon ainsi que la manipulation au laboratoire avant l'analyse. [2,3].

**Tableau 1 ;** Activités pendant et après la phase pré-analytique et personnel responsable

Activités	Personnes impliquées
Prescription d'une analyse	Médecin traitant
Préparation du patient	Médecin traitant, personnel infirmier, assistant du médecin, patient
Identification des patients et des échantillons	Médecin traitant, personnel infirmier, assistant du médecin, patient
Prélèvement de sang	Médecin, personnel infirmier, assistant du médecin
Mélange avec des anticoagulants	Médecin, personnel infirmier, assistant du médecin
Stockage jusqu'au transport	Personnel infirmier, assistant du médecin
Transport	Service de retrait sur place ou coursier
Réception, stockage et préparation des échantillons	Personnel de laboratoire, assistants médico-techniques, médecins de laboratoire

## **2- Facteurs intervenant dans le processus pré-analytique.**

Trois facteurs importants interviennent dans le processus pré-analytique. [4-6]

Le premier facteur est le facteur temps. Il représente 20 % du processus diagnostique.

Le deuxième facteur est celui représenté par les personnes. Dans ce processus participe un certain nombre d'intervenants, à savoir le personnel infirmier, le personnel de laboratoire, les médecins, les techniciens...

Le troisième facteur reprend les différents chaînons du processus qui va de la prescription du médecin à la saisie des données, du prélèvement proprement dit au transport.

- **Conditions et mode de prélèvement** revêtent une importance essentielle dans la détermination des résultats et du groupe sanguin, la pose du diagnostic et le choix éventuel d'un traitement (exemples : la gestion des veines difficiles, l'utilisation appropriée du papillon ou de la seringue, la gestion de l'écoulement difficile, les essais répétés...).

- **L'identification des échantillons** est une étape importante du processus de prélèvement. Ceux-ci doivent être dûment étiquetés, identifiés et comporter les informations suivantes : date de naissance, nom de jeune fille, sexe, nature de l'échantillon, nom du préleveur, date et heure de prélèvement, traitements éventuels suivis par le patient, degré d'urgence de l'analyse.

- **Le transport** devrait être effectué de manière optimale afin que le prélèvement ne subisse aucune modification ; il devrait se faire dans des délais brefs et à température ambiante.

## **3. Facteurs influençant le processus pré-analytique.**

Dans ce contexte, nous distinguons les facteurs d'influence liés au patient et aux erreurs.

### **3.1 Facteurs d'influence liés au patient**

Les facteurs d'influence liés au patient affectent la concentration d'un paramètre et sont pris en considération dans les valeurs de référence.

Ces influences résultent toujours des patients, de leur état physique ou de leur comportement, et peuvent être prises en considération lors de l'interprétation des résultats si les informations correspondantes ont été transmises au laboratoire.

Les facteurs d'influence liés au patient peuvent varier d'un patient à l'autre et rester inchangés durant toute une vie. Par contre, pour un patient donné, ils peuvent aussi changer à court ou à long terme, du jour au lendemain voire même au cours d'une journée.

### 3.1.1 Facteurs d'influence modifiables à court terme

Le patient a-t-il pris un repas récemment ? L'idéal est d'effectuer le prélèvement 12 heures après l'ingestion d'aliments, car certains paramètres comme le glucose, les triglycérides, la VS... peuvent être influencés.

L'heure idéale de prélèvement — en fonction des rythmes biologiques circadiens — se situe entre 7 et 9 heures du matin et en tout cas avant 12 heures, car les paramètres suivants peuvent être influencés : cortisol, fer, calcium, magnésium, phosphore...

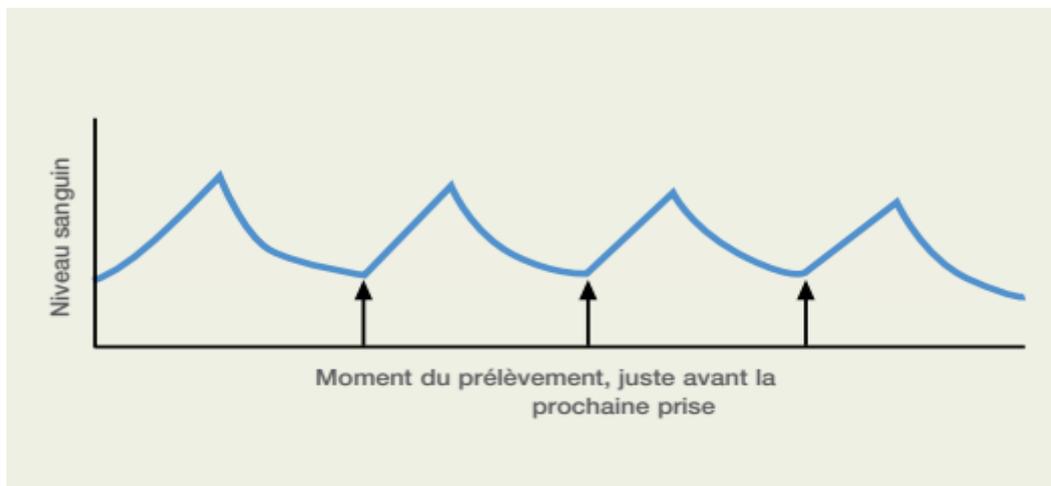
Idéalement, il faut attendre 12 heures après un exercice musculaire pour effectuer un prélèvement, car les paramètres suivants peuvent être influencés : lactates, CPK...

Il est important de s'assurer de l'existence ou non d'une situation de stress, car les paramètres suivants peuvent être influencés : cortisol, hormones thyroïdiennes...

Les facteurs principaux qui peuvent influencer le dosage sont la grossesse, l'obésité, l'alcool, le cycle menstruel, la contraception orale, le tabac, la caféine, [3]

Exemple : Cas de prise des médicaments.

La prise de sang doit s'effectuer avant les soins ou/et la prise de médicaments. Si le patient prend des médicaments, il faut prendre en compte le pic sérique, choisir l'état stationnaire pour faire le prélèvement. Dans le cas d'un bilan préopératoire, la surveillance du traitement, du bilan thyroïdien et du bilan cardiaque est importante



**Figure 1** : Le moment idéal pour la détermination des niveaux médicamenteux.

### 3.1.2 Facteurs d'influence modifiables à long terme

Dans les valeurs de référence devraient être repris, l'âge, le sexe, l'ethnie, des facteurs

qui peuvent avoir une influence sur les paramètres suivants : hémoglobine, acide urique, bilirubine, phosphatase alcaline, cholestérol, LDL, HDL... (non exhaustif).

En ce qui concerne l'ethnie, les paramètres suivants peuvent subir une influence : amylases, granulocytes, monocytes...

### 3.2 Facteurs d'influence liés aux erreurs (Principales erreurs pré-analytiques)

La maîtrise de la phase pré-analytique, essentielle pour la fiabilité des résultats et la pertinence de l'interprétation de l'examen, s'appuie sur :

- La mise à disposition de toutes les informations décrivant l'ensemble des étapes nécessaires à l'obtention d'échantillons conformes
- la mise en place de différentes étapes de contrôles lors de la réception des échantillons

#### 3.2.1. Erreurs fréquentes concernant l'identification

Les erreurs d'identification ne portent pas atteinte à la qualité des échantillons mais compliquent considérablement le travail du laboratoire.

Elles peuvent entraîner des malentendus et des retards voire même rendre impossible l'attribution des résultats de laboratoire au patient.

Les échantillons ou les fiches de prescription manquants et l'étiquetage illisible font partie de cette catégorie d'erreurs.

Les erreurs d'identification sont le plus souvent dues à un travail inattentif, un manque de temps ou une distraction.

#### 3.2.2 Erreurs fréquentes lors du prélèvement de sang

Afin que le prélèvement se fasse de manière optimale, le patient sera en position couchée ou allongée, éventuellement assis. Pour certains paramètres, des variations pouvant aller jusqu'à  $\pm 50\%$  sont observées si le patient change de position. En position debout, les variations s'échelonnent de 5 à 15 %. [6,7]

L'application d'un garrot aide à localiser la veine et facilite la ponction veineuse. Elle provoque une pression de filtration dans la veine, qui entraîne une hémococoncentration. La modification de la concentration dépend de la durée et de l'intensité de la stase.

Si le garrot est trop serré, la stase augmente la pression de filtration (une stase trop longue ou trop forte peut entraîner une hémolyse).

Si la désinfection n'est pas effectuée correctement, le désinfectant peut passer dans l'échantillon de sang et altérer les résultats d'analyse.

Le stockage ainsi que le transport des tubes devraient se faire en position verticale à température ambiante. La température de conservation et de transport se situe idéalement entre 4 °C et 23 °C.

En cas de stockage correct, le vide dans les tubes utilisés remplit sa fonction uniquement jusqu'à la date de péremption indiquée sur l'étiquette. Après cette date, les produits ne doivent plus être utilisés. Le tube ne doit pas être utilisé après cette date.

### 3.2.3 Erreurs fréquentes concernant le transport et le stockage

En raison de leur stabilité parfois très limitée, les échantillons doivent être transmis au laboratoire aussi rapidement que possible.

Si des paramètres sensibles à la lumière doivent être déterminés, comme par exemple la bilirubine, les échantillons doivent être protégés de la lumière pendant le transport et le stockage [4,5].

Des fluctuations extrêmes de la température pendant le transport peuvent avoir un effet négatif. Si les températures sont particulièrement élevées, le maintien d'une température stable à l'aide de containers isolants appropriés est essentiel.

Si un échantillon n'est pas hermétiquement fermé pendant son stockage, une évaporation susceptible d'en modifier la concentration peut s'ensuivre. [5,6] .

Si le sérum ou le plasma n'est pas séparé des cellules à l'aide d'un gel séparateur, des substances peuvent passer des cellules au plasma ou au sérum par diffusion. Au cours de ce processus, la paroi cellulaire n'est pas détruite comme dans le cas de l'hémolyse. En revanche, les effets sur l'échantillon sont similaires et provoquent, par exemple, une augmentation des valeurs de LDH et de potassium. [7].

## 3.3. Erreurs fréquentes lors de traitement des échantillons avant l'analyse

### 3.3.1. Erreurs lors de la centrifugation

Une durée d'attente trop longue avant la centrifugation peut provoquer des modifications du sérum ou du plasma au-dessus des cellules.

Si la durée d'attente avant la centrifugation est trop courte et si le sang n'a pas pu coaguler entièrement, une post-coagulation peut se produire dans le sérum. Celle-ci produira des fibres de fibrine dans le sérum, qui risquent d'obstruer les conduites de l'analyseur. [5].

La centrifugation dans des récipients ouverts entraîne une évaporation de l'échantillon, notamment dans le cas d'échantillons de volume réduit.

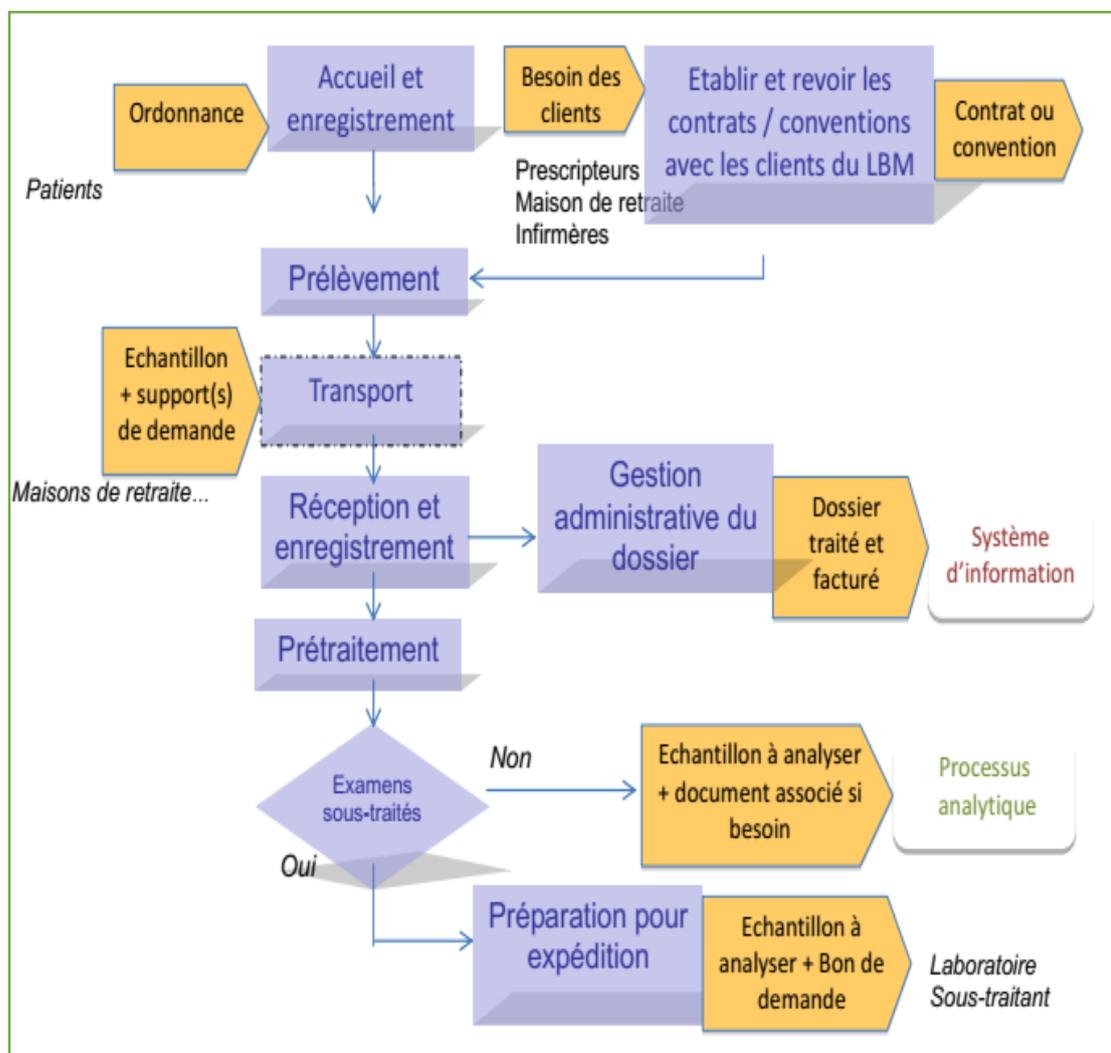
Par conséquent, s'assurer toujours de la fermeture hermétique des récipients à échantillons - pour la centrifugation mais aussi pour des raisons d'hygiène. [5].

### 3.3.2. Echantillons insuffisamment homogénéisés

Le sang total doit être homogène avant d'être introduit dans l'analyseur. A titre d'exemple, le sang total EDTA doit être soigneusement mélangé avant son utilisation.

Un problème particulier peut se présenter en cas d'utilisation de tubes de prélèvement sanguin avec un petit diamètre, comme par exemple de tubes pour la vitesse de sédimentation des érythrocytes (VS). L'homogénéisation insuffisante de ces échantillons entraîne une augmentation de la vitesse de sédimentation.

Le schéma suivant détaillant les étapes pré-analytique ainsi que les erreurs qui peuvent s'installer lors de chaque étape.



**Figure 2** : schéma détaillant les étapes pré-analytiques ainsi que les erreurs qui peuvent s'installer lors de chaque étape.

#### **4.Importance de la phase pré analytique**

Les erreurs de laboratoire pré-analytiques présentent des risques pour la sécurité des patients

Les effets négatifs observés comprenaient l'admission inadéquate d'un patient aux soins intensifs et des événements transfusionnels inappropriés.

D'autres résultats potentiellement négatifs d'une erreur pré-analytique incluent des diagnostics incorrects par les médecins, la répétition de la collecte et du test des échantillons, et la prolongation du séjour d'un patient à l'hôpital.

Environ 30% des erreurs dans le laboratoire clinique entraînent une répétition inutile des tests de laboratoire, des tests inutiles (et souvent plus invasifs) et des consultations supplémentaires entre les patients et les équipes soignantes

Ces événements entraînent une diminution du confort des patients et une augmentation des coûts pour les Système de santé.

Sur la base de preuves anecdotiques, une seule erreur dans les tests de laboratoire peut entraîner des consultations avec des médecins et des spécialistes, tests de laboratoire supplémentaires, un scanner et un traitement inapproprié. [6-9] .

## CHAPITRE III

# L'hémolyse

## **1. Définition :**

Le mot hémolyse dérive du grecque : Hémô (c'est-à-dire sang) ; et lyse (c'est-à-dire rupture).

L'hémolyse consiste en la rupture de la membrane plasmique de l'érythrocyte avec pour conséquence la libération de son contenu intracellulaire dont une quantité importante d'hémoglobine [9,10].

Après centrifugation de l'échantillon de sang total, l'hémolyse se caractérise par une coloration rosée à rouge du plasma ou du sérum. L'intensité de cette coloration varie selon la concentration d'hémoglobine libre.

Physiologiquement, on peut retrouver de l'hémoglobine libre dans le plasma à des concentrations inférieures à 0.02 g/dl (1.2  $\mu\text{mol/L}$ ) ou dans le sérum à des concentrations inférieures à 0.05 g/dl (3.1  $\mu\text{mol/L}$ ). L'hémolyse est visuellement détectable pour des concentrations d'hémoglobine libre d'environ 0.1 à 0.3 g/L (6.2 à 18.6  $\mu\text{mol/L}$ ), est clairement visible pour une lyse de 0.5% des globules rouges correspondant à 0.5 g/L (31  $\mu\text{mol/L}$ ) d'hémoglobine libre [9-11].

La détection visuelle de l'hémolyse peut toutefois être entravée par un aspect ictérique ou lactescent de l'échantillon.

L'hémolyse est un phénomène important en médecine pour plusieurs raisons, les deux principales étant :

- L'hémolyse in vivo, qui peut être causée par une variété de conditions et de troubles physiopathologiques ou pathologiques, peut conduire à divers degrés d'hémolyse.
- L'hémolyse in vitro, provoquée par des procédures inappropriées de collecte et/ou de manipulation de l'échantillon biologique, peut affecter sérieusement les résultats des tests et par conséquent leur influence sur le diagnostic et les soins.

## **2. Cause de l'hémolyse :**

On distingue l'hémolyse in vivo de l'hémolyse in vitro liée au traitement pré-analytique de l'échantillon. L'hémolyse peut survenir à la fois in vivo et in vitro

### **2.1. Causes d hémolyse in vivo**

L'hémolyse in vivo correspond à une hémolyse intravasculaire, aiguë ou chronique. Il s'agit d'une destruction exagérée des hématies normalement produites, dont la durée de vie se trouve ainsi raccourcie. Elle se traduit le plus souvent par une anémie.

Les causes d'hémolyse in vivo peuvent être corpusculaires (liées à une anomalie du globule rouge : membrane, hémoglobine ou enzyme) ou extra-corpusculaires d'origine immunologiques (auto-anticorps, allo-anticorps) ou non immunologiques (mécanique, infectieuse ou toxique).

Parmi les situations et sujets à risque d'hémolyse mécanique, on peut citer certaines conditions chirurgicales comme la chirurgie cardiaque réalisée sous circulation extra-corporelle (CEC), les sujets ayant bénéficié d'un remplacement valvulaire ou les patients sous assistance circulatoire.

## **2.2. Causes d hémolyse in vitro**

L'hémolyse des échantillons est principalement due à des problèmes pré-analytiques (98% des cas). L'ensemble des étapes pré-analytiques et différents facteurs peuvent être mis en cause [12,13].

Les problèmes pré-analytiques les plus courants sont identifiés comme des procédures de collecte inadéquates et le stockage des échantillons de sang y compris la qualité inappropriée de l'échantillon (coagulation, contamination), un volume insuffisant et des contenants inappropriés.

Les facteurs produisant l'hémolyse in vitro peuvent donc débiter par l'acte du prélèvement et se poursuivre tout au long du processus pré-analytique jusqu'à l'analyse de l'échantillon.

Les facteurs responsables peuvent être classés

- En fonction de l'état du patient (p. Ex. Veines fragiles),
- La compétence de la personne qui recueille l'échantillon (p. Ex. infirmière),
- Les conditions de transport, de traitement et de conservation des échantillons.

### **2.2.1. Principales causes de l'hémolyse in vitro lors du prélèvement sanguin.**

Les cellules sanguines en général et les globules rouges en particulier sont fragiles et susceptibles de se rompre lorsqu'elles sont exposées à un traumatisme mécanique, un choc osmotique (exposition à des fluides non isotoniques) et des températures extrêmes (par exemple, pendant le transport au laboratoire) [17].

Il faut considérer également que si une veine est traumatisée pendant la ponction, le premier tube recueilli peut contenir du sang hémolysé, tandis que les tubes suivants peuvent être non hémolysés.

Une aspiration excessive peut entraîner la destruction des globules rouges qui traversent l'aiguille en raison de la turbulence et des forces physiques. Ce type d'hémolyse est plus susceptible de se produire lorsque les veines d'un patient sont difficiles à trouver [17].

En conséquence, l'expérience et l'utilisation d'une technique appropriée par le préleveur sont essentielles à la prévention de l'hémolyse.

Les sites alternatifs à la zone antécubitale, tels que les veines de la main, sont fragiles et facilement traumatisables; par conséquent, la collecte de sang à partir de ces sites est plus susceptible de produire une hémolyse.

Effectuer la ponction veineuse avant que l'alcool ne soit complètement séché peut également provoquer une rupture des globules rouges.

La stase veineuse est souvent négligée en tant que source potentielle de variabilité pré-analytique dans les résultats des tests, elle est plutôt accompagnée par de multiples interférences dans les tests de laboratoire ainsi que par une plus grande probabilité de générer une hémolyse [17].

En ce qui concerne spécifiquement l'utilisation du garrot, une mise en place excessivement prolongée (par exemple, 3 à 5 minutes) favorise la sortie de l'eau, des ions diffusibles et des substances de faible poids moléculaire des vaisseaux, augmentant ainsi la concentration de divers analytes sanguins sur le site perforé et influençant la fiabilité des résultats du test [14].

De plus, lorsque le microenvironnement vasculaire est soumis à la fois à l'hypoxie et à la stase concomitante, il y a de fortes chances que les protons s'accumulent, ce qui pourrait favoriser des changements dans les paramètres de laboratoire [14-16].

Indépendamment de ces changements importants, un plus grand degré d'hémolyse a été observé dans les échantillons prélevés avec un placement prolongé du garrot. Les raisons de l'hémolyse pendant la stase veineuse prolongée sont pour la plupart inconnues, il a été suspecté que l'hémoconcentration et l'équilibre hydrique provoquant ainsi la lyse des globules rouges et des plaquettes [18,19].

#### 2.2.2. Principales causes de l'hémolyse in vitro lors du transport et du stockage des échantillons

Le transport d'échantillons approprié fait partie intégrante de l'obtention d'un résultat de laboratoire valide et opportun.

Le problème des conditions appropriées de transport des échantillons (temps, température et humidité) est émergent de manière critique, en particulier lorsque les échantillons primaires non centrifugés sont transportés sur de longues distances et / ou pendant des périodes excessivement longues. La mort des globules rouges causant une hémolyse ultérieure est généralement attribuable à l'épuisement progressif du métabolite énergétique du glucose dans l'échantillon [17].

#### 2.2.3. Centrifugation de l'échantillon

En ce qui concerne la centrifugation, la contrainte mécanique infligée par des forces de gravité (g) plus élevées est une source bien connue d'échantillons hémolysés [20].

Une barrière mécanique (par exemple, gel) non développée est une autre source potentielle d'hémolyse, dans la mesure où certains globules rouges peuvent revenir dans la partie sérum (p.ex lorsqu'un échantillon est aspiré) puisque les globules rouges seront de nouveau en contact avec le sérum et les cellules lysées seront homogénéisées dans le sérum ou le plasma [21].

Les autres sources d'hémolyse comprennent la centrifugation du sang avant l'achèvement de la coagulation et la formation d'un caillot ou lors de la centrifugation des échantillons partiellement coagulés prélevés sur des patients sous traitement anticoagulant ou sur des échantillons contaminés par l'héparine.

### **3. Mécanismes d'interférence**

La Fédération internationale de chimie clinique et de médecine de laboratoire (IFCC) fournit une définition claire d'interférence analytique, qui est

« L'erreur de mesure systématique causée par un composant de l'échantillon qui ne produit pas à lui seul un signal dans le système de mesure » [22].

Cependant, Selby.C (1993) a fourni une autre définition appropriée, qui est « l'effet d'une substance présente dans un système analytique, qui provoque un écart de la valeur mesurée par rapport à la valeur vraie » [23].

Fondamentalement, l'interférence dans les échantillons hémolysés est due à la fuite de l'hémoglobine ainsi que d'autres composants intracellulaires dans le fluide environnant.

On peut classer les mécanismes d'interférence en 4 classe :

- Interférences d'apport
- Interférences de détection et interférences spectrales
- Interférences chimiques
- Mécanisme par dilution

#### **3.1. Interférences d'apport**

L'hémolyse in vitro est une anomalie pré-analytique et elle peut engendrer des interférences d'apport par un mécanisme de surcharge, la libération du contenu érythrocytaire induit une surestimation de certains paramètres. Cette augmentation est directement proportionnelle à la concentration intra-érythrocytaire de l'analyte en question et à l'importance de l'hémolyse.

Ce type d'interférence ne peut avoir lieu que si un analyte a une concentration intracellulaire supérieure à la concentration extracellulaire.

L'ASAT, LDH, magnésium, et le potassium sont caractérisés par une concentration intracellulaire plus élevée que la concentration extracellulaire et pourraient donc, en raison des effets d'apport, être significativement augmenté dans les échantillons hémolysés.

En particulier, les érythrocytes contiennent environ 160 fois plus de LDH, environ 68 fois plus de phosphatase acide, environ 40 fois plus d'AST et environ 6,7 fois plus d'ALT que le plasma [25,28].

### 3.2 Interférences de détection et interférences spectrales

La substance interférente peut également avoir des propriétés similaires à celles de l'analyte en ce qui concerne la fluorescence, la dispersion lumineuse ou la position d'éluion.

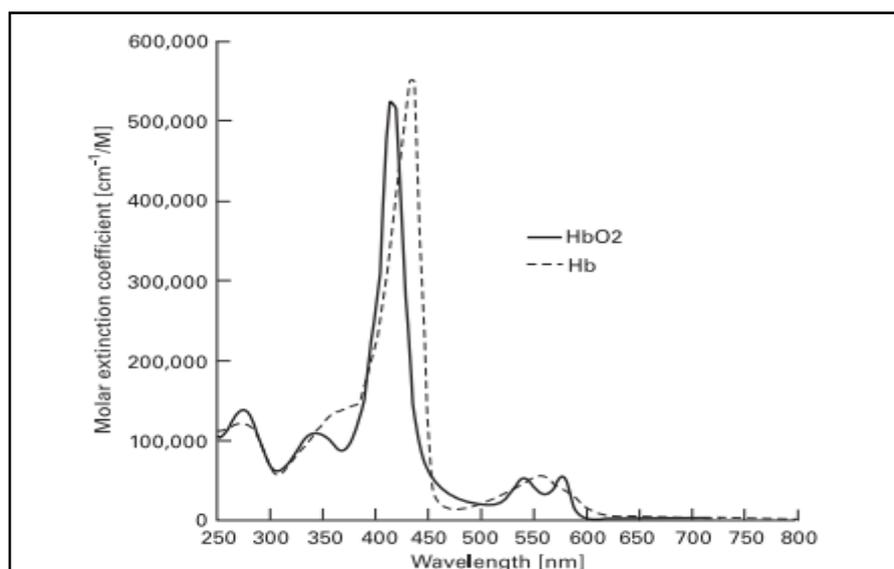
Nous nous intéresserons plus particulièrement aux interférences spectrales qui sont liées à l'additivité de la loi de Beer-Lambert, et vont s'observer pour les paramètres dont la mesure finale est spectrophotométrique et réalisée à une longueur d'onde proche des principales longueurs d'onde d'absorption de la substance interférente.

Il peut s'agir d'une surestimation ou sous-estimation du paramètre dosé (selon que l'on mesure en cinétique descendante ou ascendante) et dans tous les cas l'interférence spectrale fournit un résultat « erroné ».

Les principales bandes d'absorption de l'hémoglobine sont situées à 415 nm, 540 nm et 578 nm. L'hémolyse est donc susceptible d'influencer la mesure des paramètres dont la détection se fait par spectrophotométrie autour de ces longueurs d'ondes [25.26]

De plus la structure de l'hémoglobine peut varier avec le milieu, précipiter dans les milieux acides, se transformer en hématine dans les milieux alcalins, se réduire, former de la méthémoglobine ou même carboxy ou sulfohémoglobine, tous présentant des spectres différents et des modes d'interférence divers [25].

Néanmoins, l'interférence spectrophotométrique est à peu près linéaire et dépend de la concentration finale d'hémoglobine libre dans le sérum ou le plasma, ce qui pourrait générer une tendance constante vers la surestimation de certaines enzymes telles que ASAT, ALT, CK et LDH [17].



**Figure 3 :** Pic d'absorbance de l'hémoglobine et de l'oxyhémoglobine.

### **3.3. Interférences chimiques**

La présence de plusieurs substances « anormales » dans une solution de réactif pourrait générer des interférences à différents stades de la réaction, en consommant certains des produits.

Les globules rouges contiennent plusieurs protéines structurales, des enzymes, des lipides et des hydrates de carbone en plus de l'hémoglobine, et beaucoup d'entre eux peuvent interagir ou entrer en compétition avec les réactifs du test.

La substance interférente peut ainsi inhiber une réaction par compétition, complexation ou précipitation d'un réactif ou d'un produit de la réaction.

La substance interférente peut également altérer l'activité d'une enzyme (analyte ou réactif) ou du fait de la non spécificité d'une réaction, agir de la même manière que l'analyte en établissant une réaction croisée [17].

À titre d'exemple on peut citer l'interférence lors du dosage de la créatine kinase par libération d'adénylate kinase.

L'interférence de l'hémolyse sur les dosages immunochimiques est beaucoup moins fréquente que pour les dosages spectrophotométriques. Il peut toutefois exister des interférences liées à une éventuelle surcharge ou liées à la réactivité croisée des anticorps utilisés vis-à-vis de protéines érythrocytaires.

### **4. Mécanisme par dilution**

Ce type ne se voit que si la concentration d'un analyte est plus élevée dans le plasma ou le sérum par rapport à la concentration intra-érythrocytaire.

Lors de la lyse des cellules, le plasma se dilue avec le liquide intracellulaire, ce qui entraîne une diminution des concentrations plasmatiques.

Le chlorure, le glucose et le sodium sont caractérisés par une concentration extracellulaire plus élevée que la concentration intracellulaire et pourraient donc, en raison des effets de dilution, être significativement réduits dans les échantillons hémolysés [17].

# PARTIE PRATIQUE

## 1. Objectif :

L'objectif de cette thèse est d'étudier l'interférence de l'hémolyse sur le dosage de 17 paramètres biochimiques courants, en déterminant le sens de l'interférence et à partir de quelle concentration d'hémoglobine dans le plasma l'impact est significatif.

## **2. Matériel et méthodes**

### **2.1. Type de l'étude :**

Il s'agit d'une étude transversale analytique, à recueil prospectif, constitué de deux parties, une enquête menée auprès de personnel paramédical du laborantin, et une étude expérimentale.

### **2.2. Critères de non-inclusion**

Tous les échantillons visiblement hémolysés, lipémique et ictériques ne sont pas inclus dans cette étude.

### **2.3. Protocole de l'étude expérimentale :**

Le protocole de cette étude a été inspiré d'une thèse de fin d'étude réalisé en France visant à étudier l'impact de la lipémie, l'ictère et l'hémolyse sur le dosage des paramètres biochimiques, l'auteur a été informé par mail [29].

#### **○ Préparation de l'hémolysât**

L'hémolysât est réalisé à partir d'échantillons de sang total prélevés sur des tubes contenant l'anticoagulant EDTA (acide Éthylène Diamine Tétra-Acétique).

Le plasma a été séparé des érythrocytes par centrifugation pendant 10 minutes à 2500 tr / min.

Les érythrocytes ont été lavés trois fois volume à volume avec une solution saline isotonique (0.9%), en éliminant chaque fois le surnageant (par centrifugation pendant 10 minutes à 2500 tr / min).

Les globules rouges obtenus des différents prélèvements sont poolés.

Les globules rouges sont ensuite lysés par addition d'eau distillée volume à volume, une centrifugation à 4 000g pendant 10 minutes permet d'éliminer les débris cellulaires.

La concentration d'hémoglobine dans l'hémolysat est mesurée en utilisant l'appareil Sysmex®.

#### **○ Constitution des pools de plasma**

Les pools plasmatiques sont constitués à partir des reliquats d'échantillons de patients reçus au laboratoire.

Le plasma est recueilli après la réalisation des analyses

○ **Surcharge des échantillons plasmatiques**

**Principe :** L'ajout de l'hémolysât aux échantillons plasmatique se fait avec le plus faible volume possible de tel sort que l'échantillon ne sera pas trop dilué, en simulant ainsi l'hémolyse due à la phase pré-analytique.

La méthode de surcharge en hémoglobine consiste en premier temps à réaliser à partir de l'hémolysât (solution mère) et de l'eau physiologique une gamme de concentration en hémoglobine (0.2, 0.5, 1, 3, 5, 8,10) g/dl.

Chaque point de cette gamme de concentration en hémoglobine est additionné à des plasmas avec la plus faible dilution possible (on a choisi une dilution de 1/10) d'une façon qu'on obtient les concentrations finale suivantes (0.02, 0.03, 0.1, 0.3, 0.5, 0.8, 1) g/dl.

Un témoin servant de valeur de référence est réalisé en additionnant de la même façon du sérum physiologique.

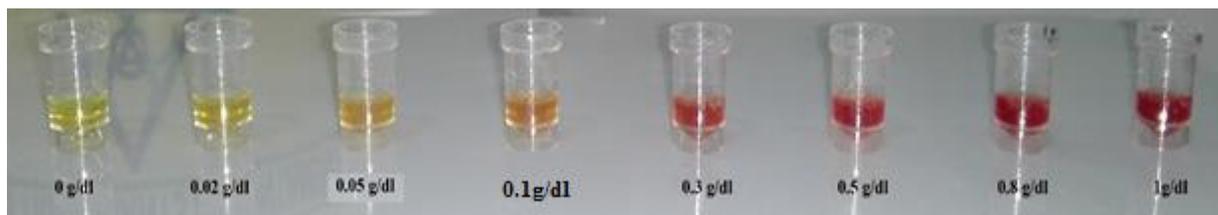
**Tableau 2 :** tableau de dilution pour la préparation d'une gamme de concentration du sérum en hémoglobine.

<b>Volume de plasma</b>	450	450	450	450	450	450	450	450
<b>Volume d'hémolysât</b>	0	50	50	50	50	50	50	50
<b>Volume d'eau Phy</b>	50	0	0	0	0	0	0	0
<b>Volume finale</b>	500	500	500	500	500	500	500	500
<b>Cc d hb finale</b>	0	0.02	0.05	0.1	0.3	0.5	0.8	1

○ **Délai de mise en analyse**

Les échantillons hémolysés ont été mise en analyse dans un délai de 30 min.

La figure suivante présente les différents degré d'hémolyse que nous avons réalisé.



**Figure 4 :** Différents degrés de sérum hémolysé réaliser par expérience d'hémolyse contrôlée in vitro.

## 2.4. Instrumentation

- Automate de biochimie de marque Selectra Pro M2
- Spectrophotomètre
- Automate d'hémobiologie Sysmex
- Ionogramme Phox plus
- Centrifugeuse
- Bain Marie 37°C
- Pipettes automatiques

## 2.5. Paramètre étudiés :

L'interférence de l'hémolyse a été étudiée sur les paramètres suivants :

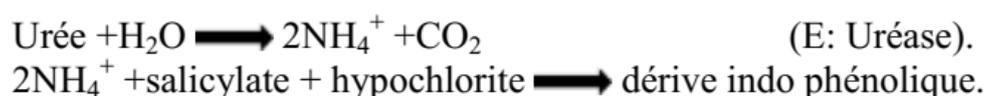
- Lactate déshydrogénase (LDH)
- Créatine Phospho Kinase (CPK),
- Alanine amino transférase (ALAT),
- Aspartate amino transférase (ASAT),
- Gamma glutamyl transférase (GGT)
- Phosphatases alcalines (PAL)
- Créatinine (CRE),
- Urée (UR)
- Glucose (GLU),
- Cholesterol total (CT),
- Triglycerides (TG),
- Acide urique (AUR),
- Calcium (Ca), Phosphore (P), magnésium (Mg)
- Ionogramme Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>

## 2.6. Méthodes de dosage

### 2.6.1. Dosage de l'urée

Principe : Méthode Berthelot.

L'hydrolyse de l'urée présente dans l'échantillon est catalysée par l'uréase, en présence de nitroprussiate, les ions ammonium formés réagissent avec le salicylate pour donner un dérivé indo phénolique vert. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de l'urée dans l'échantillon.



Longueur d'onde :  $\lambda = 580 \text{ nm}$ .

Valeurs de référence : 0.15-0.45 g/l.

### 2.6.2. Dosage de la créatinine

Le test est basé sur la réaction de la créatinine avec le picrate de sodium comme décrit par Jaffé.

La créatinine réagit avec le picrate alcalin formant un complexe rouge, la lecture est cinétique, l'intervalle de temps choisi pour les mesures 20-90 secondes, évite les interférences provenant d'autres constituants du sérum.

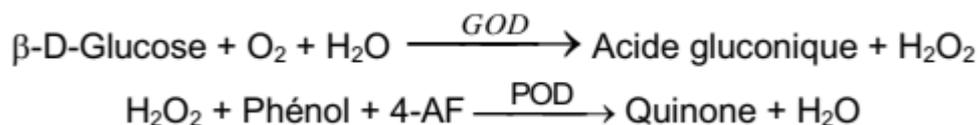
L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de créatinine dans l'échantillon

Absorbation du blanc :  $\lambda = 505 \text{ nm}$ .

Valeurs de référence :	Homme	0.7-1.4 mg/dl
	Femme	0.6-1.1 mg/dl

### 2.6.3. Dosage de glucose :

La glucose-oxydase (GOD) catalyse l'oxydation de glucose en acide gluconique. Le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) produit se détecte avec un accepteur chromogène d'oxygène, phénol, 4-aminophénazone (4-AF), en présence de la peroxydase (POD):



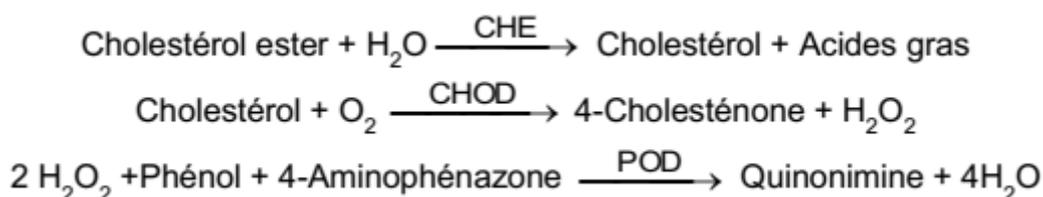
L'intensité de la couleur est proportionnelle à la concentration de glucose présente dans l'échantillon testé

Absorbation du blanc :  $\lambda = 505 \text{ nm}$

Valeurs de référence 70-110 mg/dl

### 2.6.4. Dosage de cholestérol total

Le cholestérol présent dans l'échantillon donne lieu à un composé coloré, suivant la réaction suivante :



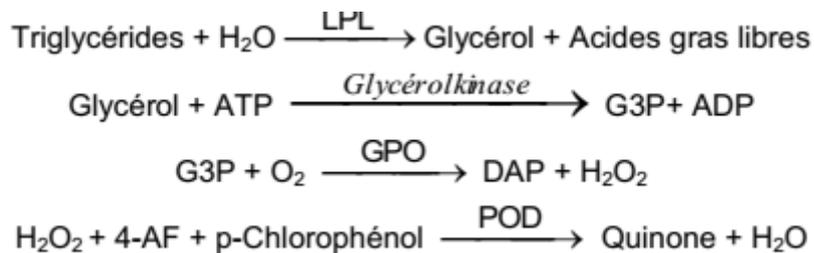
L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de cholestérol présente dans l'échantillon testé.

Longueur d'ondes:  $\lambda = 505 \text{ nm}$  (500-550)

Valeurs de référence :  $< 200 \text{ mg/dl}$

### 2.6.5. Dosage des triglycérides

Les triglycérides incubés avec de la lipoprotéinlipase (LPL) libèrent du glycérol et des acides gras libres. Le glycérol est phosphorylé par la glycérol kinase (GK) en présence de l'ATP pour produire du glycérol-3-phosphate (G3P) et de l'adénosine-5-di phosphate (ADP). Le G3P est alors transformé en dihydroxiacétone phosphate (DAP) et en peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) par la glycérophosphate déshydrogénase (GPO). Au final, le peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) réagit avec du 4-aminophénazone (4-AF) et du p-chlorophénol, réaction catalysée par la peroxydase (POD), ce qui donne une couleur rouge.



L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration des triglycérides présente dans l'échantillon testé

Longueur d'ondes :  $\lambda = 505 \text{ nm}$  (490-550)

Valeurs de référence : Homme : 40-160mg/dl  
Femme : 30-150mg/dl

### 2.6.6. Dosage de LDH

Le lactate déshydrogénase (LDH) catalyse la réduction du pyruvate au moyen de la NADH, selon la réaction suivante :



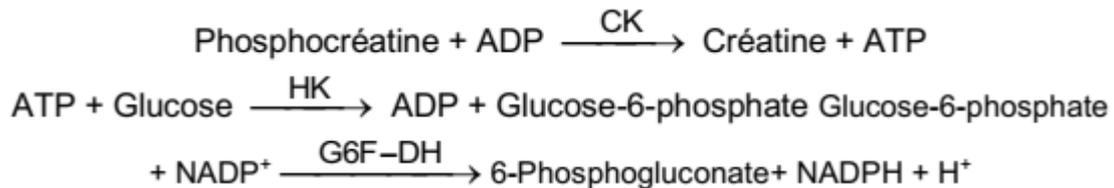
La vitesse de réduction de la concentration en NADH dans la méthode de détermination par photométrie est proportionnelle à la concentration catalytique de LDH dans l'échantillon testé.

Longueur d'ondes:  $\lambda = 340 \text{ nm}$

Valeurs de référence : 230-460 U/l

### 2.6.7. Dosage de CPK

La créatine kinase (CK) catalyse le transfert réversible d'un groupe de phosphates de la phosphocréatine vers l'ADP. Cette réaction s'accouple avec d'autres réactions catalysées par l'hexokinase (HK) et par la glucose-6- phosphate déshydrogénase (G6F-DH)



La vitesse de formation de NADPH, déterminée par photométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique en CK présente dans l'échantillon testé.

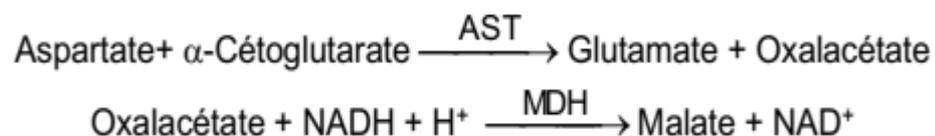
Longueur d'ondes :  $\lambda = 340 \text{ nm}$

Valeurs de référence

HOMME	<	195 U/l
FEMME	<	170 U/l

### 2.6.8. Dosage de l'ASAT

L'aspartate amino transférase (AST), initialement appelée transaminase glutamo-oxaloacétique (GOT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminique de l'aspartate vers l'alpha-cétoglutarate avec formation de glutamate et d'oxalacétate. L'oxalacétate produit est réduit en malate en présence de la malate déshydrogénase (MDH) et NADH:



La vitesse de réduction de la concentration en NADH, déterminée par spectrophotométrie, est proportionnelle à la concentration catalytique d'AST dans l'échantillon.

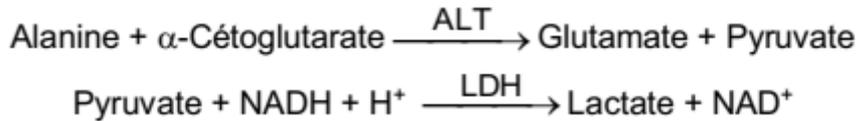
Longueur d'ondes :  $\lambda = 340 \text{ nm}$

Valeurs de référence :

Homme	<	38 U/L
Femme	<	31 U/L

### 2.6.9. Dosage de l'ALAT

L'alanine amino transférase (ALT) initialement appelée transaminase glutamopyruvique (GPT) catalyse le transfert réversible d'un groupe aminique d'alanine vers l'alpha-cétoglutarate avec formation de glutamate et de pyruvate. Le pyruvate produit est réduit en lactate en présence de la lactate déshydrogénase (LDH) et NADH



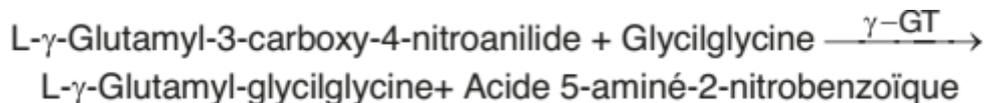
La vitesse de réduction de la concentration en NADH, déterminée photométriquement, est proportionnelle à la concentration catalytique d'ALAT dans l'échantillon

Longueur d'ondes:  $\lambda = 340 \text{ nm}$

Valeurs de référence :    Homme < 40 U/L  
                                  Femme < 32 U/L

### 2.6.10. Dosage de la GGT

La gamma-glutamyl transférase ( $\gamma$ -GT) catalyse le transfert d'un groupe  $\gamma$ -glutamyl de la  $\gamma$ -glutamyl-p-nitroanilide au dipeptide accepteur glycylglycine, d'après la réaction suivante



La vitesse de formation de l'acide 5-aminé-2-nitrobenzoïque déterminé par photométrie est proportionnelle à la concentration catalytique de la  $\gamma$ -GT dans l'échantillon testé.

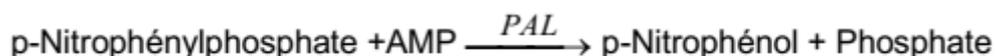
Longueur d'onde:  $\lambda = 405 \text{ nm}$

Valeurs de référence :    Homme 11-50 U/L  
                                  Femme 7-32 U/L

### 2.6.11. Dosage de la PAL

Test photométrique, conformément à l'International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicines (IFCC).

La phosphatase alcaline (PAL) catalyse le transfert du groupe phosphate depuis le p-nitrophénylphosphate (pNPP) vers le 2-amino-méthyle-1-propanol en libérant du p-nitrophénol et du phosphate, selon la réaction suivante



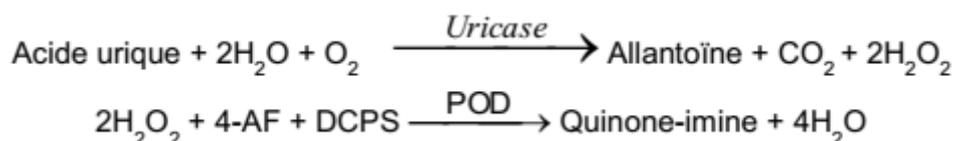
La vitesse de formation du p-Nitrophénol, déterminé de manière photométrique est proportionnelle à la concentration catalytique de la phosphatase alcaline dans l'échantillon testé.

Longueur d'onde  $\lambda = 405 \text{ nm}$

Valeurs de référence 26-117 U/L

#### 2.6.12. Dosage de l'acide urique

L'acide urique est oxydé par l'uricase en allantoïne et peroxyde d'hydrogène ( $2\text{H}_2\text{O}_2$ ) lequel, en présence de peroxydase (POD), 4-aminophénazone (4-AF) et 2,4-Dichlorophénol Sulfonate (DCPS), forme un composé rosacé :



L'intensité de quinone-imine rouge formée est proportionnelle à la concentration d'acide urique présente dans l'échantillon testé.

Longueur d'ondes:  $\lambda = 520 \text{ nm}$  (490-550)

Valeurs de référence : Homme < 70 mg/l

Femme < 60 mg/l

#### 2.6.13. Dosage du calcium.

Le calcium, en milieu neutre, forme un complexe de couleur bleu avec l'arsénazo III (acide 1,8-dihydroxi-3,6-disulfo-2,7-naftalenen-bis (azo)-dibenzenarsonique). L'intensité de couleur est directement proportionnelle à la quantité de calcium présent dans l'échantillon testé

Absorbation (A) du blanc à 650 nm

Valeurs de référence 85-105 mg/l

#### 2.6.14. Dosage du phosphore

Le phosphore inorganique réagit avec l'acide molybdique en formant un complexe phosphomolybdique. La réduction consécutive du complexe en milieu alcalin provoque une coloration en bleu de molybdène. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de phosphore inorganique présent dans l'échantillon testé

Longueur d'ondes:  $\lambda = 710 \text{ nm}$  (620 – 750)

Valeurs de référence 25-50 mg/l

### 2.6.15. Dosage du magnésium

Le magnésium forme un complexe coloré en réagissant avec Magon sulfoné en solution alcaline.

L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration de magnésium dans l'échantillon testé.

Longueur d'onde.  $\lambda = 546 \text{ nm}$

Valeurs de référence 16 - 25 mg/l

### 2.6.16. Ionogramme

Par électrode sélective, mesure la différence de potentiel entre deux électrodes : spécifique et de référence, ce potentiel est proportionnel à la concentration de l'ion dans la solution.

Valeurs de référence :  $\text{K}^+ : 3.5 - 5 \text{ mEq/l}$

$\text{Na}^+ : 133 - 143 \text{ mEq/l}$

## 2.7. Evaluation de la phase pré-analytique

La population cible de l'étude correspond à l'ensemble de laborant(e)s des laboratoires biologiques au niveau de l'hôpital Frantz Fanon –Blida-. Notre échantillon est composé de 24 personnes.

Un auto-questionnaire anonyme (annexe 1,2) qui a comporté des questions regroupées en deux rubriques différentes

- Une première partie qui a porté sur des données générales d'identification.
- Une deuxième partie qui a traité les différentes étapes de la phase pré-analytique des examens de laboratoire

## 2.8. Analyse statistique :

- Pour chacun des paramètres, le rapport de concentration Y/X a été calculé. Il s'agit du rapport de la concentration mesurée [plasma + gamme d'hémolysat] (Y) /concentration mesurée [plasma + NaCl] (X).

Le seuil de 10%, soit Y/X compris entre 0.9 et 1.1, de variation par rapport à la valeur vraie a été choisi pour définir une interférence sur la mesure. Des graphiques ont été confectionnés pour chaque paramètre ; la moyenne Y/X (en ordonnée) de chaque pool, en fonction de la concentration en Hb (en abscisse),

Notre critère d'acceptabilité est représenté sur le graphique par les barres horizontales (plus ou moins 10%).

- Nous avons aussi déterminé le pourcentage de variation du taux de l'analyte avant et après addition d'Hb par la formule suivante :

$$\% \text{ de variation} = \frac{(\text{Taux après hémolyse} - \text{Taux avant hémolyse}) \times 100}{\text{Taux avant hémolyse}}$$

- Pour chaque paramètre, le test de Friedman pour plusieurs échantillons appariés, a été utilisé pour comparer les médianes des concentrations avant et après addition de chaque concentration d'Hb. Une valeur de  $p < 0.05$  permet de conclure qu'il existe une différence significative entre les différentes valeurs d'un même pool.
- En cas d'une différence significative était reconnue, le choix du test statistique pour comparer les moyennes dépend de la distribution des données.
  - Si les échantillons à comparer sont distribués selon une loi normale, le test t de Student pour deux échantillons appariés, a été utilisé pour déterminer à partir de quelle concentration d'Hb la différence devient-elle significative.
  - Si les échantillons à comparer ne sont pas distribués selon une loi normale, le test de Wilcoxon (test non-paramétrique) était recommandé.
- L'analyse de la corrélation a été réalisée en utilisant le coefficient de Pearson.
- Si une corrélation significative a été mise en évidence, l'analyse de régression linéaire a été utilisé pour quantifier la linéarité de chaque variabilité.
- L'analyse statistique a été faite par le logiciel SPSS 23. Les graphes sont confectionnés par l'Excel 2016.

# Résultats

## 1. Analyse quantitative des résultats du questionnaire

### 1.1. Répartition des enquêtés en fonction de la formation :

Deux tiers des enquêtés ont une formation para médicale.

**Tableau 3** : Répartition des enquêtés en fonction de la formation

	n	%
Biologie	08	33
Laborantin(e) de santé public	16	67

### 1.2. Répartition des enquêtés selon l'ancienneté.

La plupart des enquêtés avait une ancienneté de 5 à 10 ans.

**Tableau 4** : Répartition des enquêtés selon l'ancienneté

	n	%
<b>1 – 5 ans</b>	6	25
<b>5 – 10 ans</b>	10	42
<b>10 – 15 ans</b>	5	21
<b>15 – 20 ans</b>	3	12

### 1.3. Répartition des enquêtés selon la connaissance sur la phase pré-analytique

#### 1.3.1. Répartition des enquêtés selon la connaissance sur l'influence de la phase pré-analytique.

46% des sujets enquêtés ignorent l'influence que pourrait avoir la phase pré-analytique sur le dosage biochimique.

**Tableau 5** : Répartition des enquêtés selon la connaissance sur l'influence de la phase pré-analytique

	n	%
<b>Oui</b>	13	54
<b>Non</b>	11	46

1.3.2. Répartition des enquêtés selon la connaissance sur l'influence de l'aspect du sérum sur le dosage biochimique.

L'influence de l'hémolyse sur le dosage biochimique n'a été rapporté que par 22% des réponses.

**Tableau 6 :** Répartition des enquêtés selon la connaissance sur l'influence de l'aspect du sérum sur le dosage biochimique

Aspect	N	%
Hémolysé	11	22
Coagulé	10	20
Lactescent	07	15
Ictérique	10	20
Non-respect de rapport sang-anti coagulant	11	23

1.3.3. Répartition des enquêtés selon la connaissance des paramètres influences par l'hémolyse.

L'influence de l'hémolyse sur les paramètres biochimiques n'a été rapporté que par 37% des réponses.

**Tableau 7:** Répartition des enquêtés selon la connaissance des paramètres influences par l'hémolyse.

	n	%
Paramètres biochimiques	18	37
Autres paramètres biologiques	30	63

1.3.4. Répartition des enquêtés selon la conduite à tenir devant un échantillon hémolysé.

42% des réponses sont en forme d'un non réception des tubes hémolysés.

**Tableau 8 :** Répartition des enquêtés selon la conduite à tenir devant un échantillon hémolysé.

	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Utiliser l'échantillon</b>	5	21
<b>Demander un autre prélèvement</b>	10	42
<b>Selon le paramètre</b>	9	37

#### 1.4. Répartition des enquêtés selon les manipulations pré-analytiques.

##### 1.4.1. Répartition des enquêtés selon la durée de pose de garrot.

Plus que la moitié des interrogés optent pour un temps de pose de garrot de 3 à 4 minutes.

**Tableau 9** Répartition des enquêtés selon la durée de pose de garrot.

<b>Durée (min)</b>	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>&lt;3</b>	09	38
<b>3 -4</b>	14	58
<b>4 - 6</b>	01	4

##### 1.4.2. Répartition des enquêtés selon le nombre de retournement des tubes après le remplissage.

Le nombre de retournement le plus souvent effectué est de 6 à 8 fois.

**Tableau 10** Répartition des enquêtés selon le nombre de retournement des tubes après le remplissage.

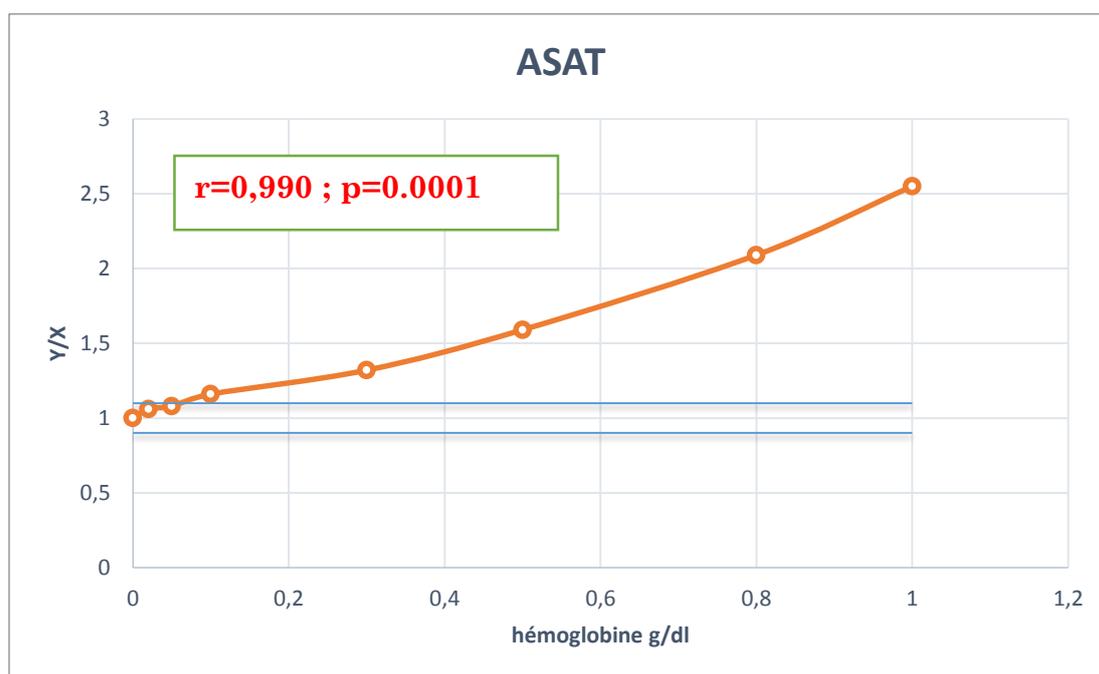
	<b>n</b>	<b>%</b>
<b>Retournement de 4 -6 fois</b>	10	42
<b>Retournement de 6 -8 fois</b>	11	46
<b>Retournement de 10 -12 fois</b>	03	12

## 2. Interférence de l'hémolyse sur l'activité d'Aspartate-amino-transférase (ASAT).

### 2.1. Résultats expérimentaux

L'ASAT a considérablement augmenté dans la présente étude à partir d'une concentration moyenne dans le contrôle de 60 UI/l jusqu'à 153 UI/l pour une concentration en hémoglobine comprise de 1g/dl.

Une augmentation de plus de 10% de l'activité d'ASAT mesurée est notée à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.05g/dl, (après le seuil visuel de détection).



**Figure 5:** Représentation graphique des résultats de dosage de l'ASAT en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

YX : rapport entre la valeur de l'ASAT obtenue en présence et en absence d'hémoglobine. Les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10% soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

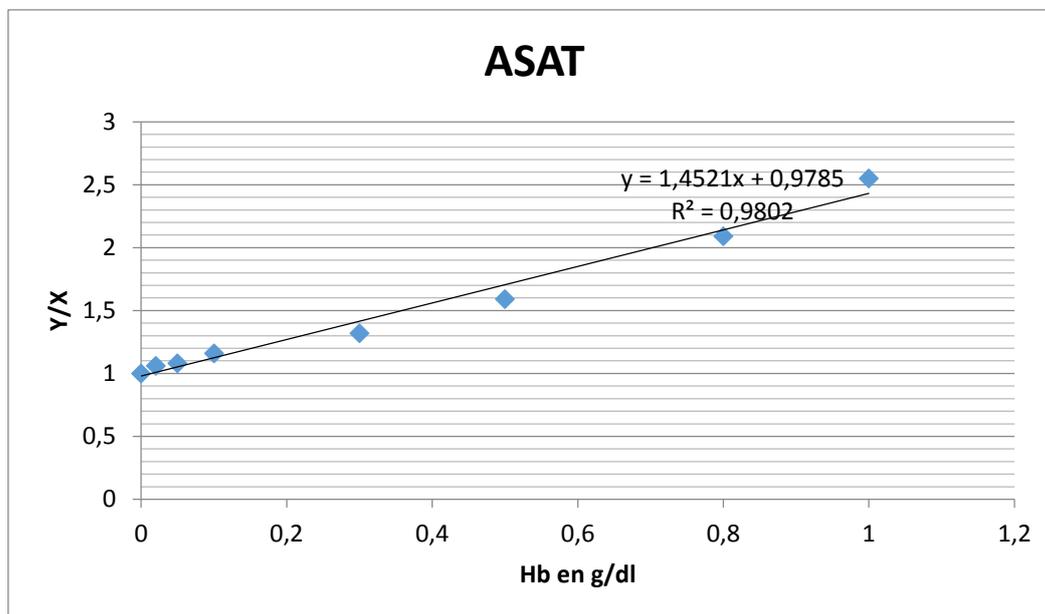
### 2.2. Etude statistique :

#### 2.2.1. Analyse de corrélation :

Une corrélation positive parfaite a été trouvée entre la variation de l'activité enzymatique de l'ASAT (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = 0.990$ ,  $p = 0.0001$ ).

2.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 98% de la variabilité de l'activité enzymatique de l'ASAT est due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.9802$ ).



**Figure 6 :** regression linéaire entre la variation de l'activité enzymatique de l'ASAT (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

2.2.3. Test de Friedmen

La valeur de p des données sur la concentration des échantillons en hémoglobine est inférieure au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ), on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de l'activité ASAT.

**Tableau 11 :** résultat du test de Friedman concernant les activités enzymatiques d'ASAT avant et après l'hémolyse.

Hémoglobine en (g/dl)	n	Moyenne	Ecart-type	Min	Max	Médiane	p
0	15	60	56,8	17,0	235,0	40	0.0001
0,02	15	64	60,6	18,0	256,0	43	
0,05	15	65	61,8	20,0	261,0	44	
0,1	15	70	64,5	22,0	275,0	46	
0,3	15	80	63,9	31,0	280,0	56	
0,5	15	96	63,6	44,0	290,0	83	
0,8	15	125	67,7	56,0	315,0	111	
1	15	153	71,0	71,0	330,0	158	

#### 2.2.4. Test de t Student pour échantillons appariés

Toutes les valeurs de p sont  $<0.05$  ; on conclut qu'il existe une forte différence significative entre les moyennes d'activités d'ASAT en absence et en présence d'hémoglobine à des concentrations comprises entre (0g/dl et 1g/dl).

**Tableau 12** : résultat de test de t Student apparié concernant les activité enzymatique d'ASAT avant et après l'hémolyse.

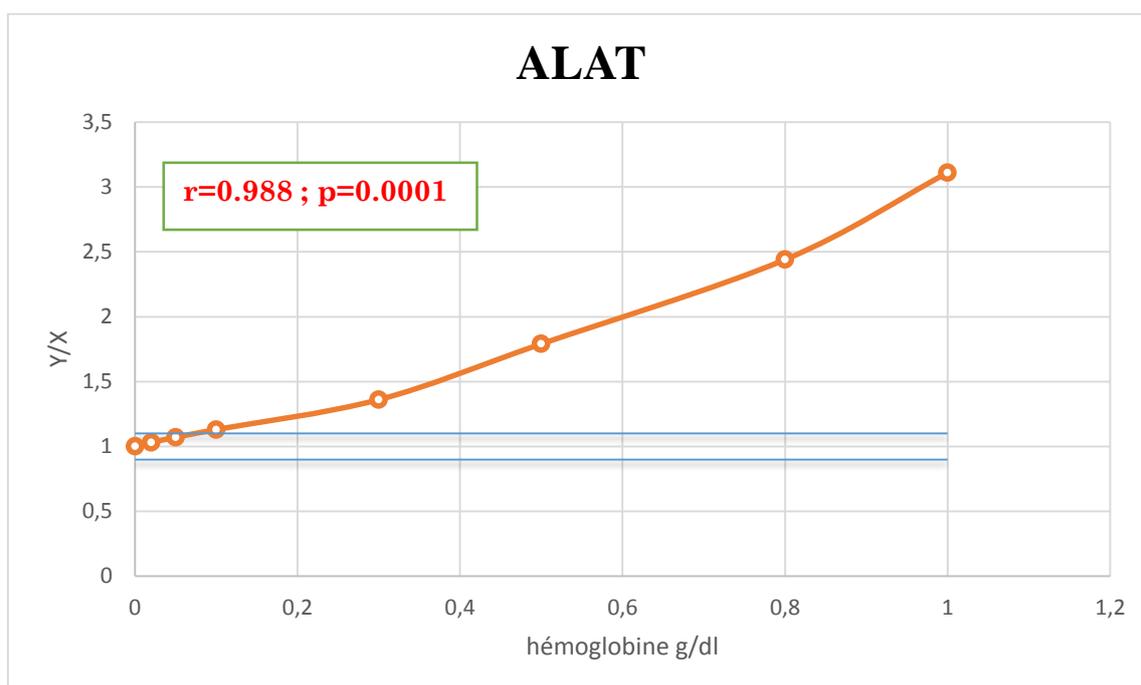
Hémoglobine en (g/dl)	n	Moyenne	Ecart-type	p
0	15	60	56,8	
0,02	15	64	60,6	0.024
0	15	60	56,8	
0,05	15	65	61,8	0.016
0	15	60	56,8	
0,1	15	70	64,5	0.002
0	15	60	56,8	
0,3	15	80	63,9	0.0001
0	15	60	56,8	
0,5	15	96	63,6	0.0001
0	15	60	56,8	
0,8	15	125	67,7	0.0001
0	15	60	56,8	
1	15	153	71,0	0.0001

### **3. Interférence de l'hémolyse sur l'activité d'Alanine-amino-transférase (ALAT) :**

#### **3.1 Résultats expérimentaux :**

L'activité ALAT a considérablement augmenté dans la présente étude à partir d'une concentration moyenne dans le contrôle de 24 UI/l jusqu'à 75 UI/l pour une concentration en hémoglobine de 1g/dl.

Une augmentation de plus de 10% de l'activité ALAT mesurée est notée à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.1g/dl, (après le seuil visuel de détection).



**Figure 7** Représentation graphique des résultats de dosage de l'ALAT en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

YX : rapport entre la valeur de l'ALAT obtenue en présence et en absence d'hémoglobine. Les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

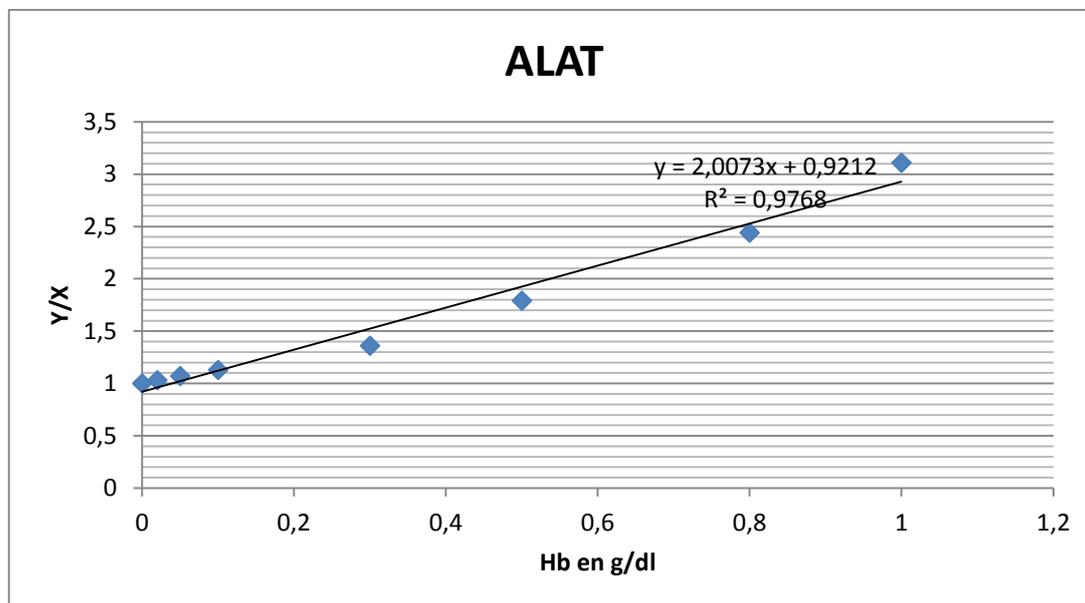
#### **3.2. Etude statistique :**

##### **3.2.1 Analyse de corrélation :**

Une corrélation positive parfaite a été trouvée entre la variation de l'activité enzymatique de l'ALAT (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = 0.998$ ,  $p = 0.0001$ ).

3.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 97% de la variabilité de l'activité enzymatique de l'ALAT est due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.9768$ ).



**Figure 8 :** regression lineaire entre la variation de l'activité enzymatique de l'ALAT (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

3.2.3. Test de Friedman

La valeur de p des données sur la concentration des échantillons en hémoglobine sont inférieures au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ) on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de l'activité ALAT.

**Tableau13:** résultat de test de Friedman concernant les activités enzymatiques d'ALAT avant et après l'hémolyse.

Hémoglobine En g/dl	n	Moyenne	Ecart-type	Min	Max	Médiane	p
0	15	24	27,3	4,0	100,0	15	0,0001
0,02	15	25	28,5	4,0	105,0	15	
0,05	15	26	29,5	5,0	111,0	16	
0,1	15	27	30,2	5,0	115,0	17	
0,3	15	33	31,6	5,0	126,0	25	
0,5	15	43	31,9	7,0	130,0	40	
0,8	15	59	35,2	8,0	145,0	48	
1	15	75	44,1	8,0	173,0	65	

### 3.2.4. Test de t Student et Wilcoxon pour échantillons appariés :

Il n'existe pas une différence significative ( $p = 0.068$ ) entre la moyenne d'activité d'ALAT en absence et en présence d'hémoglobine à une concentration de 0.02 g/dl (avant le seuil visuel de détection).

A partir de la concentration 0.05 g/dl (après le seuil visuel de détection) apparaît une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les moyennes d'activité d'ALAT.

On remarque aussi qu'à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.3 g/dl, les valeurs de  $p$  deviennent très significatives ( $p=0.0001$ ), ce qui reflète la forte influence de l'hémolyse sur le dosage d'ALAT à partir de ce seuil de concentration.

**Tableau 14** : résultat de test de t Student et Wilcoxon appariés concernant les activités enzymatiques d'ALAT avant et après l'hémolyse

Hémoglobine en (g/dl)	moyenne	n	Ecart-type	P(*)
0	24	15	27,3	0,068
0,02	25	15	28,5	
0	24	15	27,3	0,041
0,05	26	15	29,5	
0	24	15	27,3	0,006
0,1	27	15	30,2	
0	24	15	27,3	0,001
0,3	33	15	31,6	
0	24	15	27,3	0.0001
0,5	43	15	31,9	
0	24	15	27,3	0.001*
0,8	59	15	35,2	
0	24	15	27,3	0.001*
1	75	15	44,1	

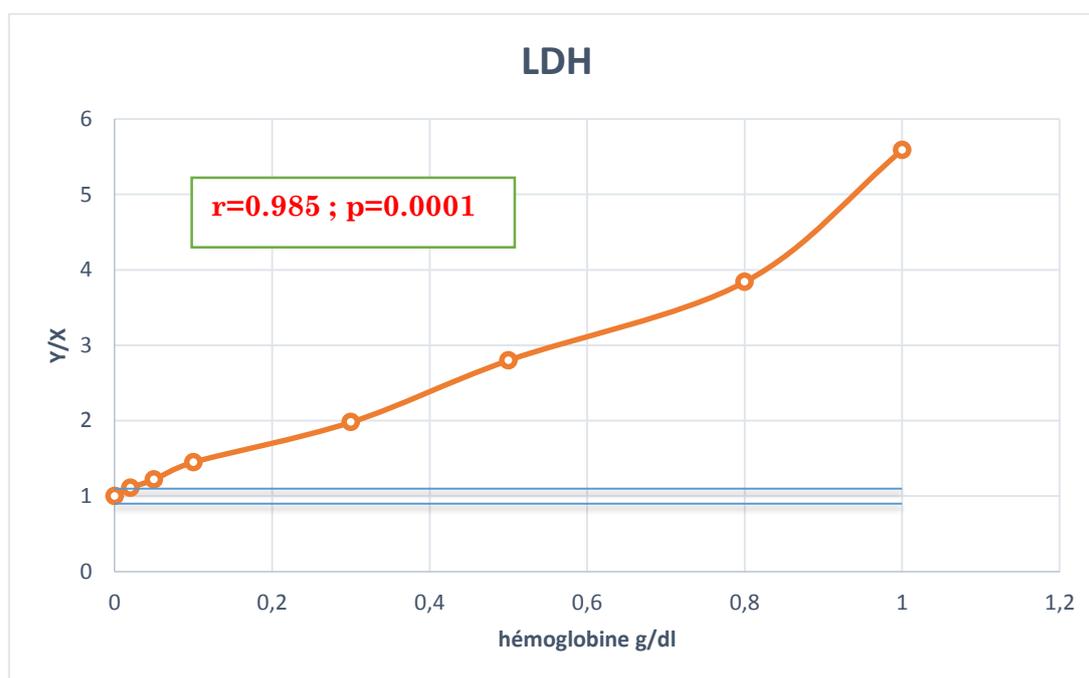
p\*= test de Wilcoxon

## 4. Interférence de l'hémolyse sur l'activité de LDH

### 4.1. Résultats expérimentaux

L'activité LDH a augmenté dans la présente étude d'une façon très importante, à partir d'une concentration moyenne dans le contrôle de 418 UI/l jusqu'à 2338 UI/l (environ 5 fois la valeur du contrôle) pour une concentration en hémoglobine de 1g/dl.

Une augmentation de plus de 10% d'activité de LDH mesurée est notée même avec une concentration en hémoglobine de 0.02g/dl, (avant le seuil visuel de détection).



**Figure 9 :** Représentation graphique des résultats de dosage de la LDH en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

YX : rapport entre la valeur de LDH obtenue en présence et en absence d'hémoglobine, les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

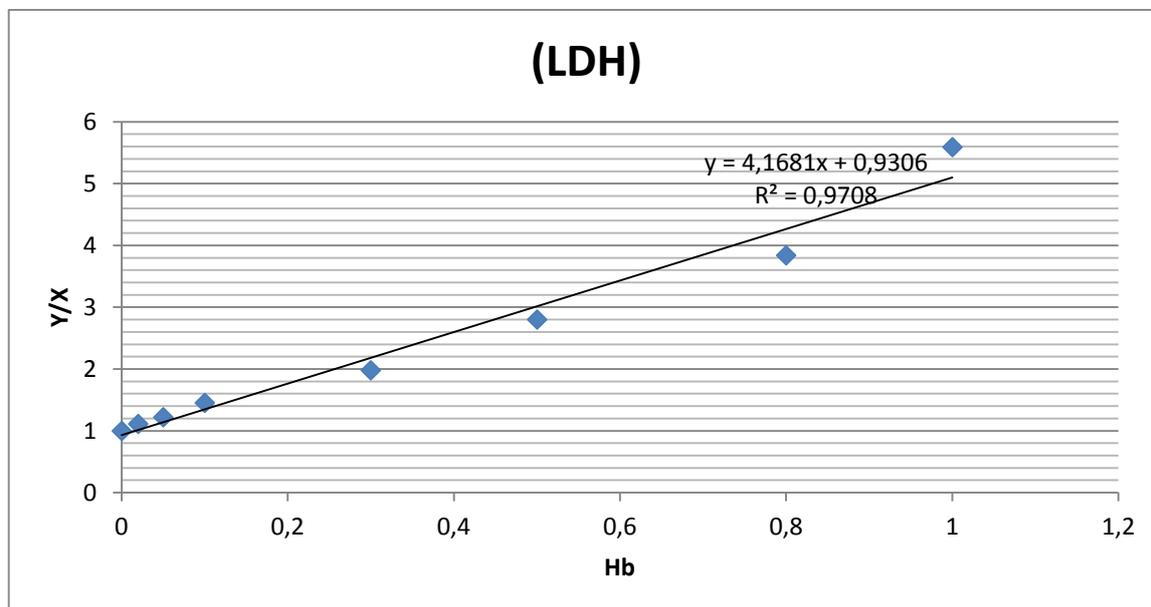
### 4.2. Etude statistique :

#### 4.2.1. Analyse de corrélation :

Une corrélation positive parfaite a été trouvée entre la variation de la concentration de la LDH (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = 0.985$  ,  $p = 0.0001$ ).

4.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 97% de la variabilité de l'activité enzymatique de la LDH est due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.9708$ ).



**Figure 10:** regression linéaire entre la variation de l'activité enzymatique de la LDH (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

4.2.3. Test de Friedman

La valeur de p des données sur les médianes des activités de la LDH et les concentrations des échantillons en hémoglobine est inférieure au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ) on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de l'activité LDH.

**Tableau 15 :** résultat de test de Friedman concernant les activités enzymatiques de la LDH avant et après l'hémolyse.

Hémoglobine En g/dl	n	Moyenne	Ecart-type	Min	Max	Médiane	p
0	15	418	149,6	181	666	425	0,0001
0,02	15	462	161,1	216	733	464	
0,05	15	509	171,6	250	809	501	
0,1	15	608	188,8	297	984	620	
0,3	15	827	279,0	412	1380	835	
0,5	15	1170	455,0	585	2100	1095	
0,8	15	1607	616,6	703	3120	1545	
1	15	2338	938,8	921	4520	2320	

#### 4.2.4. Test de Wilcoxon pour échantillons appariés :

Toutes les valeurs de p sont =0.001 ; on conclut qu'il existe une forte différence significative entre les moyennes d'activités de la LDH en absence et en présence d'hémoglobine à des concentrations comprises entre (0g/dl et 1g/dl)

**Tableau 16** résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant l'activité enzymatique de la LDH avant et après l'hémolyse.

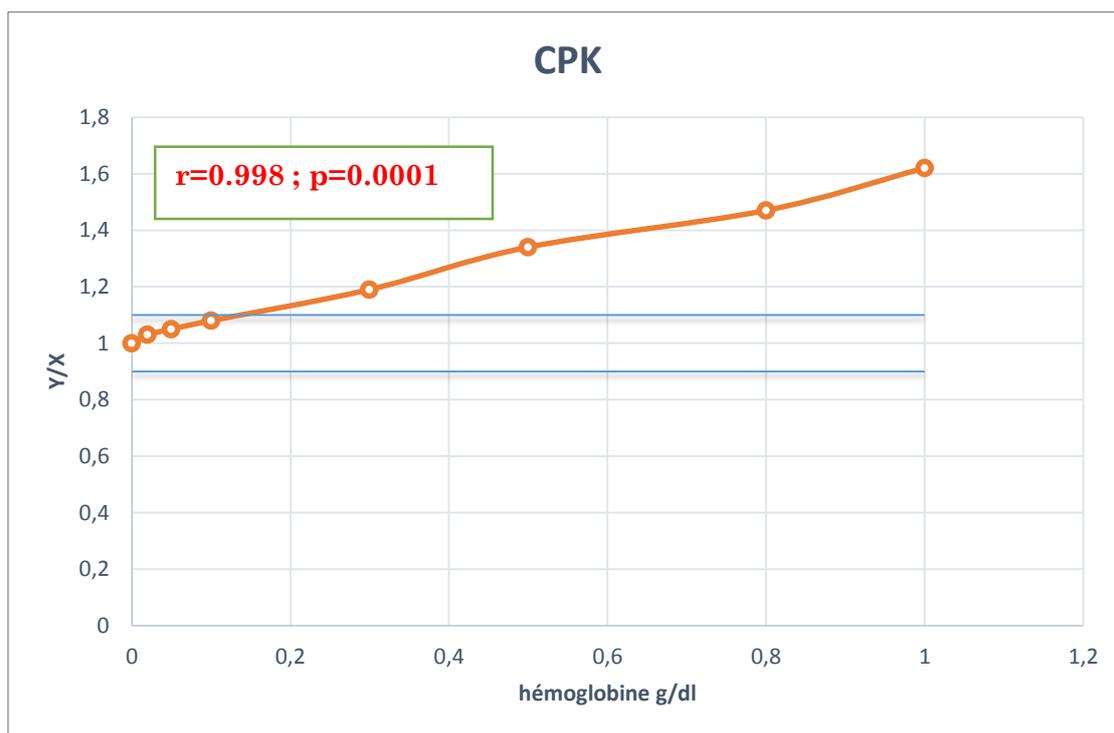
<b>Hémoglobine en (g/dl)</b>	<b>moyenne</b>	<b>n</b>	<b>Ecart-type</b>	<b>p</b>
<b>0</b>	418	15	149,6	0,001
<b>0,02</b>	462	15	161,1	
<b>0</b>	418	15	149,6	0,001
<b>0,05</b>	509	15	171,6	
<b>0</b>	418	15	149,6	0,001
<b>0,1</b>	608	15	188,8	
<b>0</b>	418	15	149,6	0,001
<b>0,3</b>	827	15	279,0	
<b>0</b>	418	15	149,6	0,001
<b>0,5</b>	1170	15	455,0	
<b>0</b>	418	15	149,6	0,001
<b>0,8</b>	1607	15	616,6	
<b>0</b>	418	15	149,6	0,001
<b>1</b>	2338	15	938,8	

## 5. Interférence de l'hémolyse sur l'activité de CPK

### 5.1 Résultats expérimentaux

L'activité CPK a augmenté dans la présente étude d'une façon très importante, à partir d'une concentration moyenne dans le contrôle de 160 UI/l jusqu'à 259 UI/l pour une concentration en hémoglobine de 1g/dl.

Une augmentation de plus de 10% d'activité de la CPK mesurée est notée à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.15 g/dl, (après le seuil visuel de détection).



**Figure11:** Représentation graphique des résultats de dosage de la CPK en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

YX : rapport entre la valeur de CPK obtenue en présence et en absence d'hémoglobine, les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

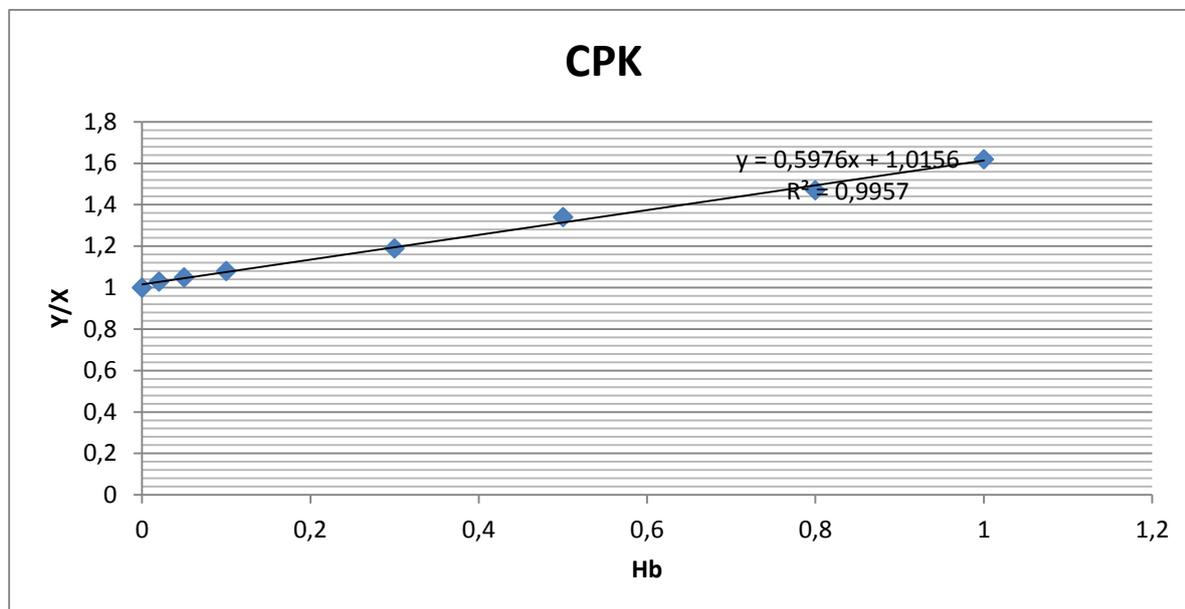
### 5.2. Etude statistique :

#### 5.2.1. Analyse de corrélation

Une corrélation positive parfaite a été trouvée entre la variation de la concentration de la CPK (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = 0.998$  ,  $p = 0.0001$ ).

5.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 99% de la variabilité de l'activité enzymatique de la CPK est due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.9957$ ).



**Figure 12 :** regression linéaire entre la variation de l'activité enzymatique de la CPK (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

5.2.3. Test de Friedman

La valeur de p des données sur la concentration des échantillons en hémoglobine est inférieure au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ), on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de l'activité de CPK.

**Tableau 17** résultat de test de Friedman concernant les activités enzymatiques de la CPK avant et après l'hémolyse.

Hémoglobine En g/dl	n	Moyenne	Ecart-type	Min	Max	Médiane	p
0	15	160	154,7	46	654	99	0,0001
0,02	15	165	164,1	48	696	102	
0,05	15	168	160,3	49	683	103	
0,1	15	172	160,5	55	687	110	
0,3	15	191	166,0	62	718	130	
0,5	15	215	164,4	71	724	160	
0,8	15	236	171,2	77	755	180	
1	15	259	170,3	80	773	205	

#### 5.2.4. Test de t Student pour échantillons appariés.

Il n'existe pas une différence significative ( $p = 0.087$ ) entre la moyenne d'activité de CPK en absence et en présence d'hémoglobine à une concentration de 0.02 g/dl (avant le seuil visuel de détection).

A partir d'une concentration de 0.05 g/dl en hémoglobine (après le seuil visuel de détection) apparaît une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les moyennes d'activité de CPK.

On note aussi qu'à partir d'une concentration en Hb de 0.1 g/dl, les valeurs de p deviennent très significatives ( $p=0.0001$ ), ce qui reflète la forte influence de l'hémolyse sur le dosage de CPK à partir de ce seuil.

**Tableau 18** : résultat de test de t Student apparié concernant les activités enzymatiques de la CPK avant et après l'hémolyse.

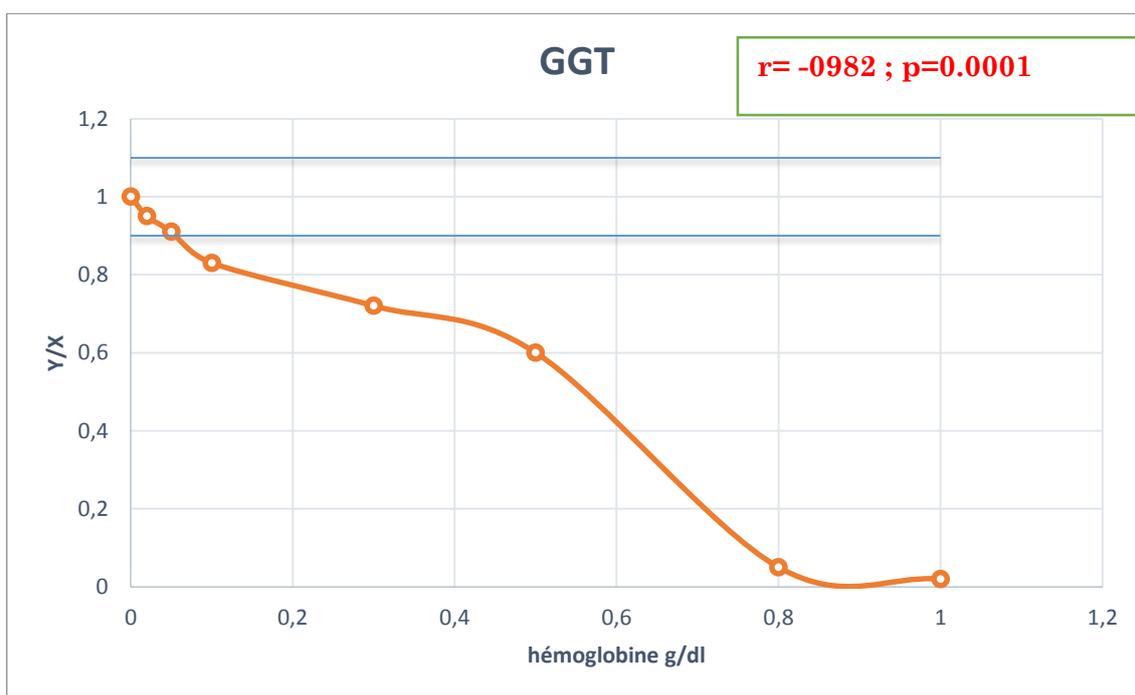
Hémoglobine en (g/dl)	Moyenne	n	Ecart-type	p
0	160	15	154,7	0,087
0,02	165	15	164,1	
0	160	15	154,7	0,001
0,05	168	15	160,3	
0	160	15	154,7	0,0001
0,1	172	15	160,5	
0	160	15	154,7	0,0001
0,3	191	15	166,0	
0	160	15	154,7	0.0001
0,5	215	15	164,4	
0	160	15	154,7	0.0001
0,8	236	15	171,2	
0	160	15	154,7	0.0001
1	259	15	170,3	

## 6. Interférence de l'hémolyse sur l'activité de la Gamma-Glutamyl-Transfèrase (GGT).

### 6.1. Résultats expérimentaux :

L'activité GGT a considérablement diminué dans la présente étude, à partir d'une concentration moyenne dans le contrôle de 50UI/l jusqu'à 01 UI/l pour une concentration en hémoglobine de 1g/dl.

Une diminution de plus de 10% d'activité de la GGT mesurée est notée à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.05 g/dl, (après le seuil visuel de détection).



**Figure 13:** Représentation graphique des résultats de dosage de la GGT en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

YX : rapport entre la valeur de GGT obtenue en présence et en absence d'hémoglobine, Les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

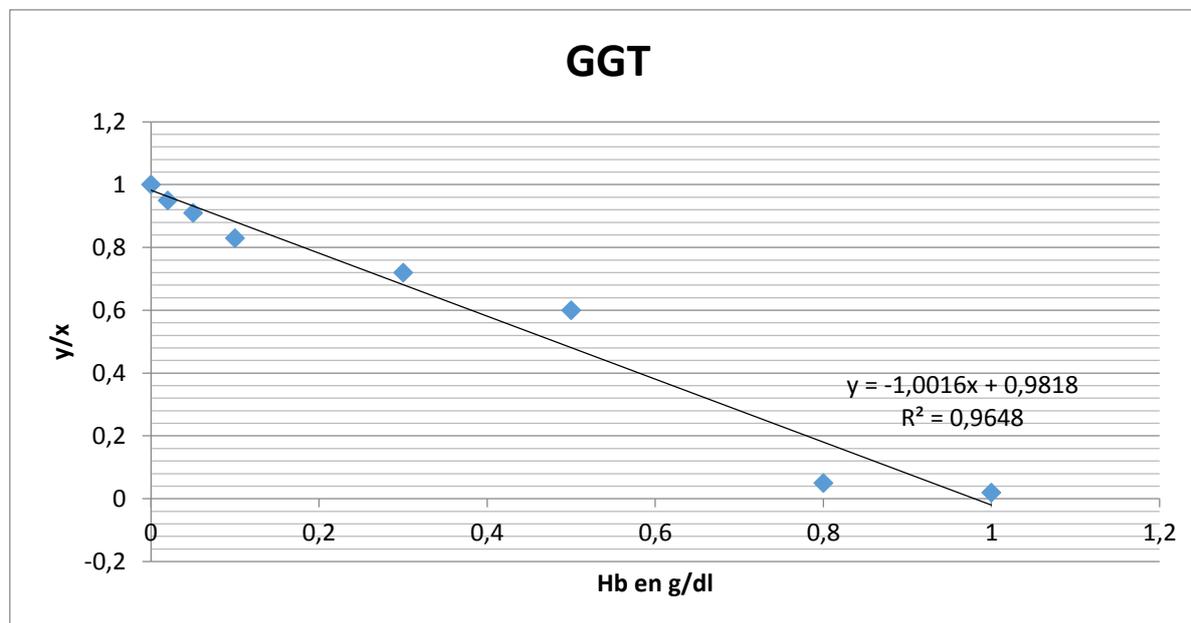
### 6.2. Etude statistique :

#### 6.2.1. Analyse de corrélation

Une corrélation négative parfaite a été trouvée entre la variation de la concentration de l'GGT (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = -0,982$ ,  $p = 0,0001$ ).

6.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 96% de la variabilité de l'activité enzymatique de la GGT est due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.9748$ ).



**Figure 14** : regression linéaire entre la variation de l'activité enzymatique de la GGT (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

6.2.3. Test de Friedman

La valeur de p des données sur la concentration des échantillons en hémoglobine est inférieure au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ) ; on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de la GGT.

**Tableau 19** : résultat de test de Friedman concernant les activités enzymatiques de la GGT avant et après l'hémolyse.

Hémoglobine En g/dl	n	Moyenne	Ecart-type	Min	Max	Médiane	p
0	15	50	41,4	14	176	38	0,0001
0,02	15	48	39,2	12	164	38	
0,05	15	45	39,5	9	165	32	
0,1	15	41	36,6	4	150	31	
0,3	15	36	37,2	0	147	27	
0,5	15	30	30,3	0	114	23	
0,8	15	3	7,2	0	22	0	
1	15	1	4,3	0	17	0	

#### 6.2.4. Test de t Student pour échantillons appariés.

Toutes les valeurs de p sont  $<0.05$ ; on conclut qu'il existe une différence significative entre les moyennes d'activités de GGT en absence et en présence d'hémoglobine à des concentrations comprises entre (0g/dl et 1g/dl)

Cette différence significative devient très remarquable ( $p = 0.0001$ ) à partir d'une concentration de 0.3 g/dl d'hémoglobine.

**Tableau 20** : résultat de test de t Student apparié concernant les activités enzymatiques de la GGT avant et après l'hémolyse.

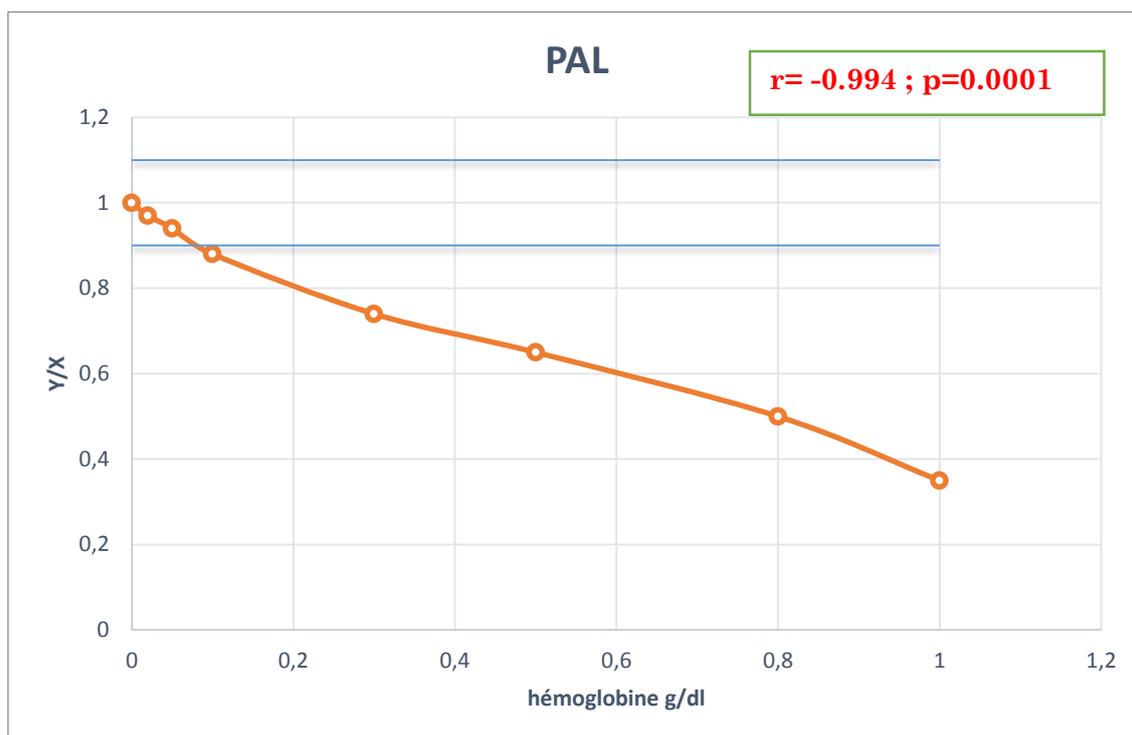
Hemoglobine en (g/dl)	moyenne	n	Ecart-type	p
0	50	15	41,4	0,013
0,02	48	15	39,2	
0	50	15	41,4	0,002
0,05	45	15	39,5	
0	50	15	41,4	0,001
0,1	41	15	36,6	
0	50	15	41,4	0,0001
0,3	36	15	37,2	
0	50	15	41,4	0.0001
0,5	30	15	30,3	
0	50	15	41,4	0.001
0,8	3	15	7,2	
0	50	15	41,4	0.0001
1	1	15	4,3	

## 7. Interférence de l'hémolyse sur l'activité de la Phosphatase alcalin (PAL)

### 7.1 Résultats expérimentaux

L'activité PAL a considérablement diminué dans la présente étude, à partir d'une concentration moyenne dans le contrôle de 156UI/l jusqu'à 54UI/l pour une concentration en hémoglobine de 1g/dl.

Une diminution de plus de 10% d'activité de la PAL mesurée est notée à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.1 g/dl, (après le seuil visuel de détection).



**Figure 15 :** Représentation graphique des résultats de dosage de la PAL en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

YX : rapport entre la valeur de la PAL obtenue en présence et en absence d'hémoglobine, les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

### 7.2. Etude statistique :

#### 7.2.1. Analyse de corrélation

Une corrélation négative parfaite a été trouvée entre la variation de la concentration de la PAL (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = -0.994$ ,  $p = 0.0001$ ).

7.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 98% de la variabilité de l'activité enzymatique de de la PAL est due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.9886$ ).

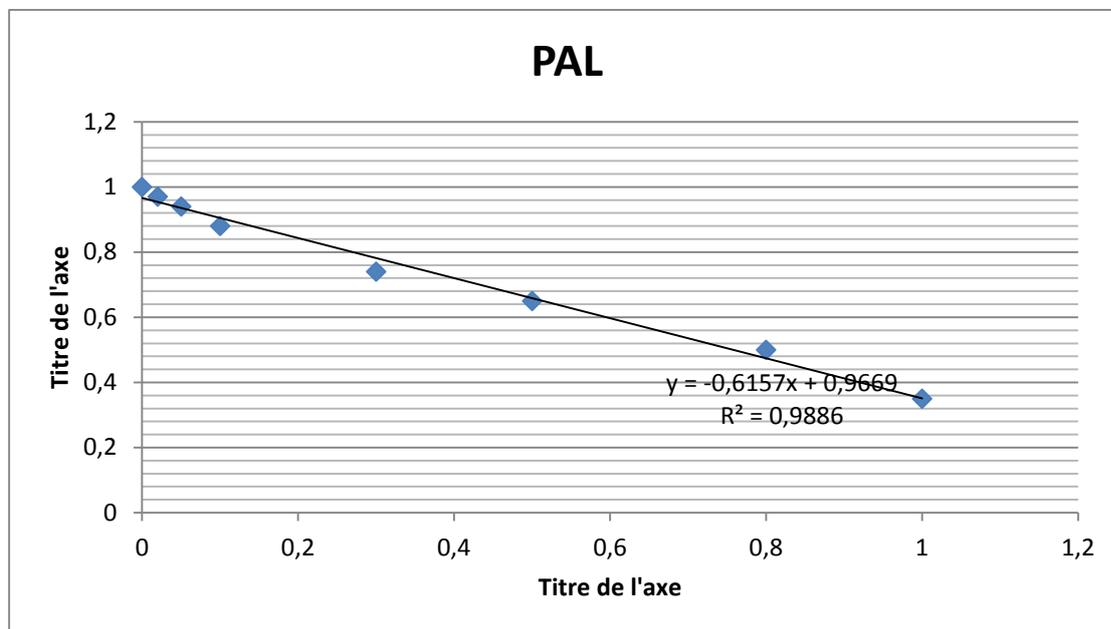


Figure 16 : regression linéaire entre la variation de l'activité enzymatique de la PAL (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

7.2.3. Test de Friedman

La valeur de p des données sur la concentration des échantillons en hémoglobine est inférieure au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ) on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de l'activité de la PAL.

**Tableau 21** : : résultat de test de Friedman concernant les activités enzymatiques de la PAL avant et après l'hémolyse.

Hémoglobine En g/dl	n	Moyenne	Ecart- type	Min	Max	Médiane	p
0	15	156	47,6	77	241	153	0,0001
0,02	15	151	45,5	79	222	144	
0,05	15	147	45,6	68	220	143	
0,1	15	137	42,6	67	215	136	
0,3	15	116	33,7	62	164	128	
0,5	15	102	33,0	41	149	106	
0,8	15	79	32,5	21	144	74	
1	15	54	36,4	0	130	57	

#### 7.2.4. Test de Wilcoxon pour échantillons appariés

Toutes les valeurs de p sont  $<0.05$ ; on conclut qu'il existe une différence significative entre les moyennes d'activités de la PAL en absence et en présence d'hémoglobine a des concentrations comprises entre (0g/dl et 1g/dl).

**Tableau 22** : résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant l'activité enzymatique de la PAL avant et après l'hémolyse.

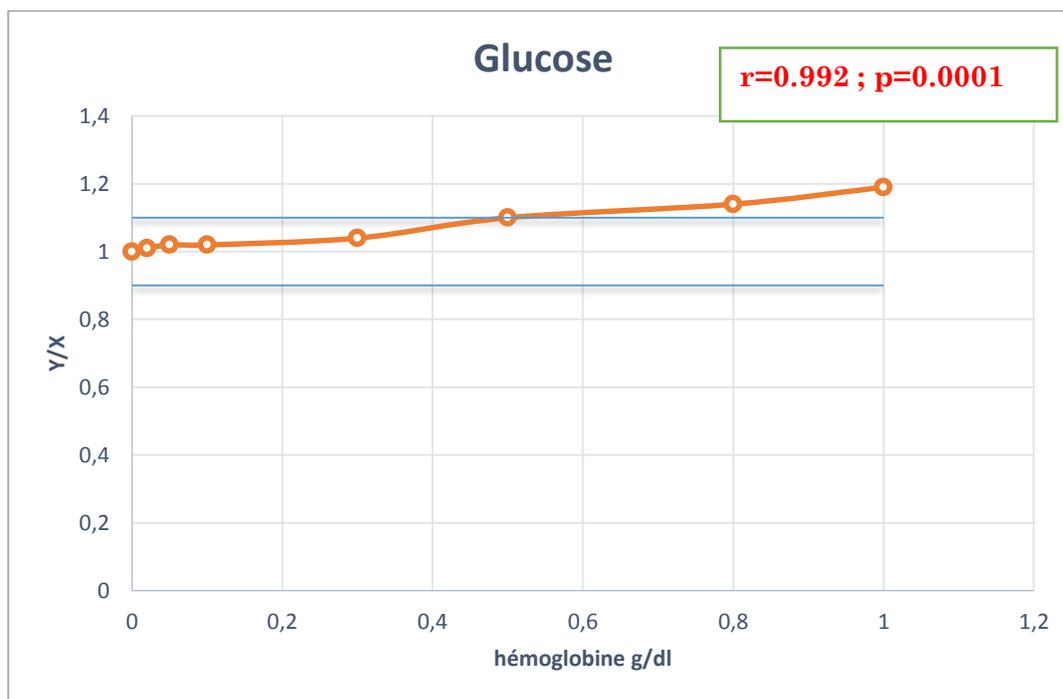
<b>Hémoglobine en (g/dl)</b>	<b>moyenne</b>	<b>n</b>	<b>Ecart-type</b>	<b>P</b>
<b>0</b>	156	15	47,6	0,003
<b>0,02</b>	151	15	45,5	
<b>0</b>	156	15	47,6	0,001
<b>0,05</b>	147	15	45,6	
<b>0</b>	156	15	47,6	0,001
<b>0,1</b>	137	15	42,6	
<b>0</b>	156	15	47,6	0,001
<b>0,3</b>	116	15	33,7	
<b>0</b>	156	15	47,6	0,001
<b>0,5</b>	102	15	33,0	
<b>0</b>	156	15	47,6	0,001
<b>0,8</b>	79	15	32,5	
<b>0</b>	156	15	47,6	0,001
<b>1</b>	54	15	36,4	

## 8. Interférence de l'hémolyse sur le dosage du glucose :

### 8.1 Résultats expérimentaux :

La glycémie a augmenté dans la présente étude à partir d'une concentration moyenne dans le contrôle de 1.23 g/l jusqu'à 1.47 g/l pour une concentration en hémoglobine de 1g/dl.

Une augmentation de plus de 10% du glucose mesurée n'est observée qu'à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.5 g/dl, (après le seuil visuel de détection).



**Figure 17:** Représentation graphique des résultats de dosage du glucose en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

YX : rapport entre la valeur de glucose obtenue en présence et en absence d'hémoglobine Les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

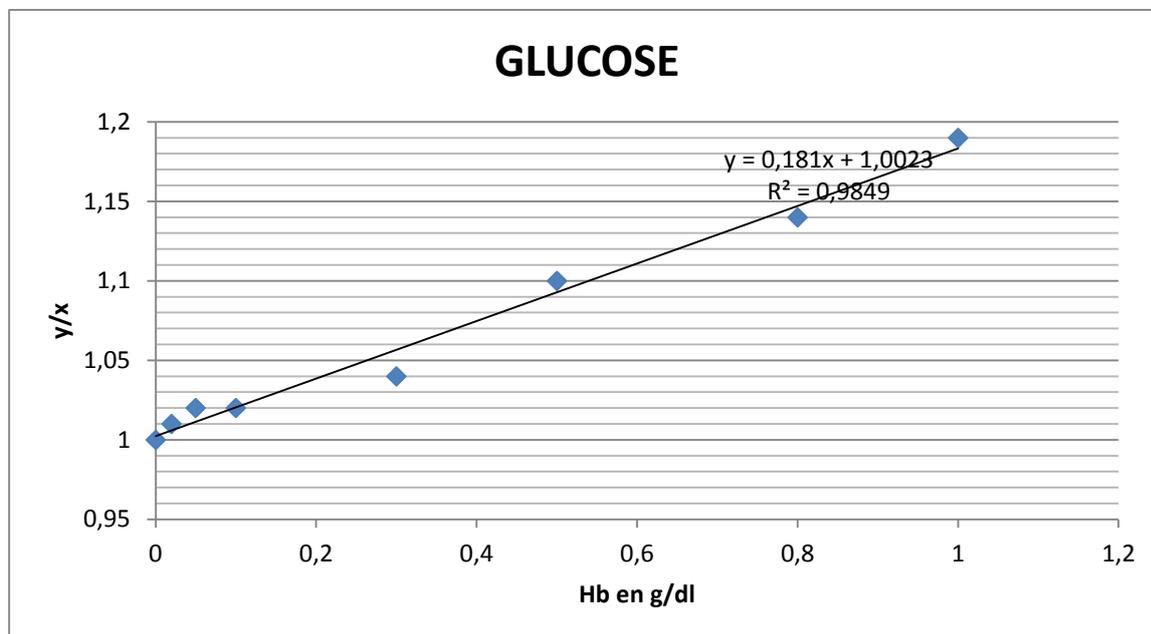
### 8.2 Etude statistique :

#### 8.2.1. Analyse de corrélation

Une corrélation positive parfaite a été trouvée entre la variation de la concentration du glucose (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = 0.992$ ,  $p = 0.0001$ ).

8.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 98% de la variabilité de la concentration de glucose est due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.9849$ ).



**Figure 18:** regression linéaire entre la variation de la concentration de glucose (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

8.2.3. Test de Friedman

La valeur de p des données sur la concentration des échantillons en hémoglobine est inférieure au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ) ; on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de la glycémie.

**Tableau 23 :** résultat de test de Friedman concernant la concentration de glucose avant et après l'hémolyse.

Hémoglobine En g/dl	N	Moyenne	Ecart-type	Min	Max	Médiane	P
0	15	1,23	0,73	0,58	3,7	1.06	0,0001
0,02	15	1,25	0,71	0,59	3,65	1.07	
0,05	15	1,26	0,72	0,59	3,68	1.08	
0,1	15	1,26	0,71	0,57	3,63	1.09	
0,3	15	1,28	0,71	0,6	3,65	1.13	
0,5	15	1,36	0,74	0,64	3,74	1.16	
0,8	15	1,41	0,74	0,66	3,77	1.25	
1	15	1,47	0,76	0,67	3,82	1.28	

#### 8.2.4. Test de t Student pour échantillons appariés

Il n'existe pas une différence significative ( $p = 0,174$ ) entre la moyenne de la glycémie en absence et en présence d'hémoglobine à une concentration de 0.02 g/dl (avant le seuil visuel de détection).

A partir de la concentration 0.05 g/dl (après le seuil visuel de détection) apparaît une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les moyennes de la glycémie.

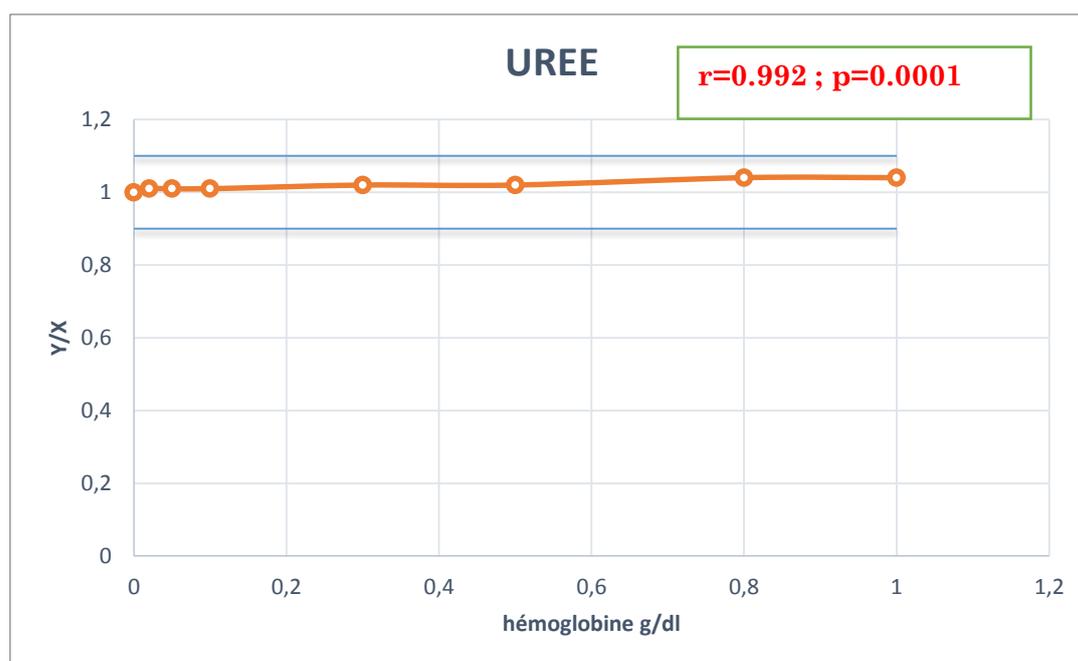
**Tableau 24** : : résultat de test de t Student apparié concernant la concentration du glucose avant et après l'hémolyse

Hémoglobine en (g/dl)	moyenne	n	Ecart-type	p
0	1,23	15	0,73	0,174
0,02	1,25	15	0,71	
0	1,23	15	0,73	0,011
0,05	1,26	15	0,72	
0	1,23	15	0,73	0,029
0,1	1,26	15	0,71	
0	1,23	15	0,73	0,001
0,3	1,28	15	0,71	
0	1,23	15	0,73	0,006
0,5	1,36	15	0,74	
0	1,23	15	0,73	0,001
0,8	1,41	15	0,74	
0	1,23	15	0,73	0,001
1	1,47	15	0,76	

## 9. Interférence de l'hémolyse sur le dosage de l'urée sanguine

### 9.1. Résultats expérimentaux

En partant d'un pool de plasma de contrôle, contenant 0.56 g/l de l'urée, le graphe suivant permet de déduire que pour un degré d'hémolyse allant jusqu'à 1 g/dl d'Hb, aucune variation de l'urée de plus de plus ou moins 10% n'est observée.



**Figure 19:** Représentation graphique des résultats de dosage de l'urée en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon

YX: rapport entre la valeur d'urée obtenue en présence et en absence d'hémoglobine, les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

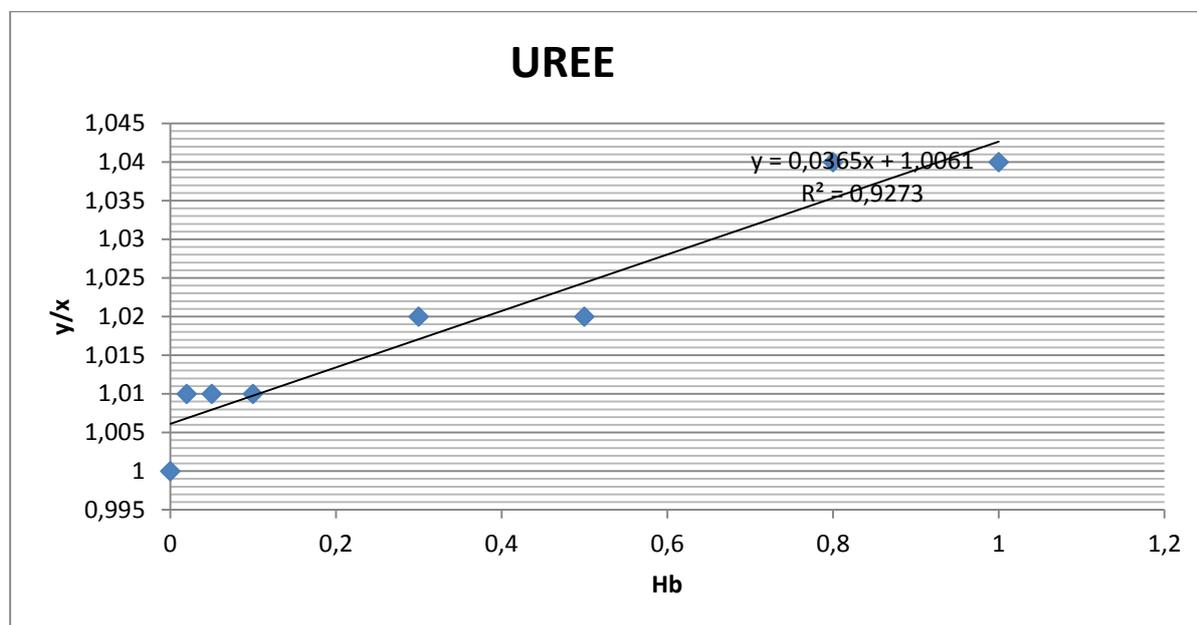
### 9.2. Etude statistique :

#### 9.2.1. Analyse de corrélation

Une corrélation positive parfaite a été trouvée entre la variation de la concentration de l'urée (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = 0.992$ ,  $p = 0.0001$ ).

9.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 97% de la variabilité de la concentration de l'urée est due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.9773$ ).



**Figure 20** : regression linéaire entre la variation de la concentration de l'urée (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

9.2.3. Test de Friedman

La valeur de p des données sur la concentration des échantillons en hémoglobine est inférieure au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ) on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de l'urée

**Tableau 25** : : résultat de test de Friedman concernant la concentration de l'urée avant et après l'hémolyse.

Hémoglobine en g/dl	N	Moyenne	Ecart-type	Min	Max	Médiane	p
0	15	0,565	0,396	0,23	1,41	0.39	0,0001
0,02	15	0,57	0,395	0,23	1,4	0.39	
0,05	15	0,568	0,401	0,23	1,42	0.39	
0,1	15	0,570	0,398	0,23	1,4	0.39	
0,3	15	0,575	0,393	0,24	1,4	0.39	
0,5	15	0,578	0,400	0,24	1,42	0.39	
0,8	15	0,588	0,407	0,24	1,47	0.40	
1	15	0,589	0.40	0.25	1.46	0.41	

#### 9.2.4. Test de t Student pour échantillons appariés

Il n'existe pas une différence significative ( $p > 0.05$ ) entre les moyennes de concentration de l'urée en absence et en présence d'hémoglobine à une concentration inférieure ou égale à 0.1g/dl

Bien que jusqu'à 1g/l d'Hb, la variation de l'urémie reste tolérée dans l'intervalle de plus ou moins 10%, on note qu'à partir d'une concentration de 0.3 g/dl d'Hb, une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les moyennes de concentration de l'urée est notée.

**Tableau 26** : Comparaison entre la moyenne de concentration de l'urée avant et après l'hémolyse. Test de Student apparié.

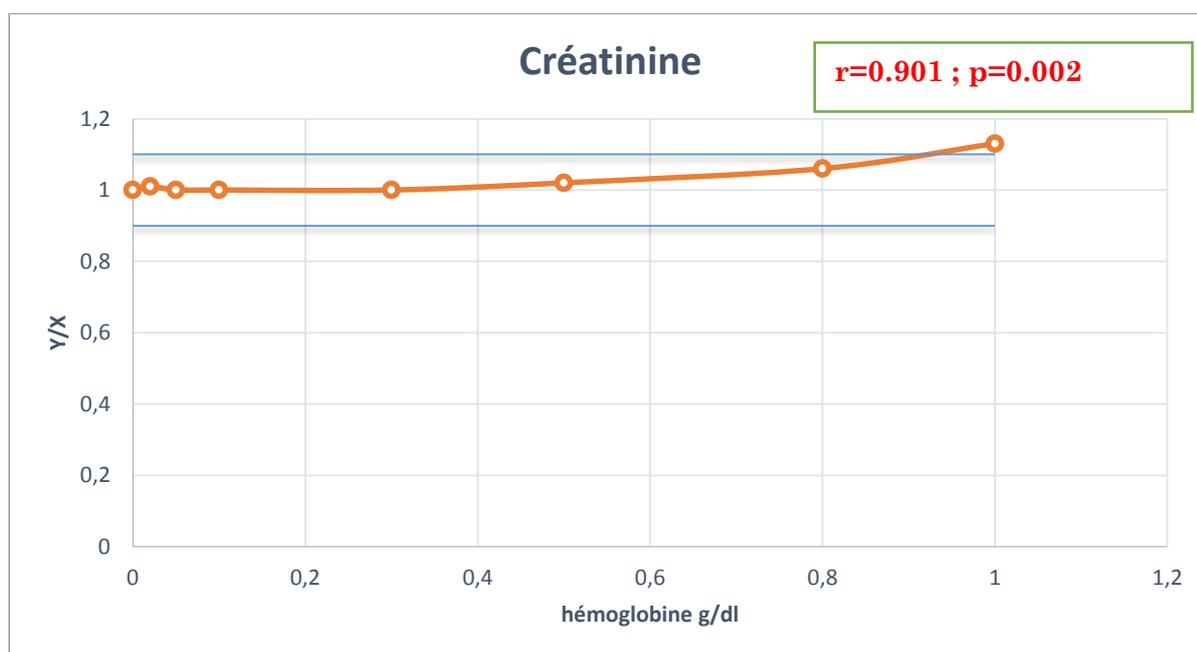
Hémoglobine en (g/dl)	moyenne	n	Ecart-type	p
0	0,565	15	0,396	0,235
0,02	0,57	15	0,395	
0	0,565	15	0,396	0,403
0,05	0,568	15	0,401	
0	0,565	15	0,396	0,205
0,1	0,570	15	0,398	
0	0,565	15	0,396	0,003
0,3	0,575	15	0,393	
0	0,565	15	0,396	0,003
0,5	0,578	15	0,400	
0	0,565	15	0,396	0.0001
0,8	0,588	15	0,407	
0	0,565	15	0,396	0.0001
1	0,588	15	0,409	

## 10. Interférence de l'hémolyse sur le dosage de la créatinine

### 10.1. Résultats expérimentaux

La créatinine a augmenté d'une façon très légère dans la présente étude, à partir d'une concentration moyenne dans le contrôle de 13.27 mg/l jusqu'à 14.95 mg/l pour une concentration en hémoglobine de 1g/dl.

Une augmentation de plus de 10% de la créatinine n'est observée qu'à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.9 g/dl.



**Figure 21** : Représentation graphique des résultats de dosage de la créatinine en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

YX : rapport entre la valeur de créatinine obtenue en présence et en absence d'hémoglobine, les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

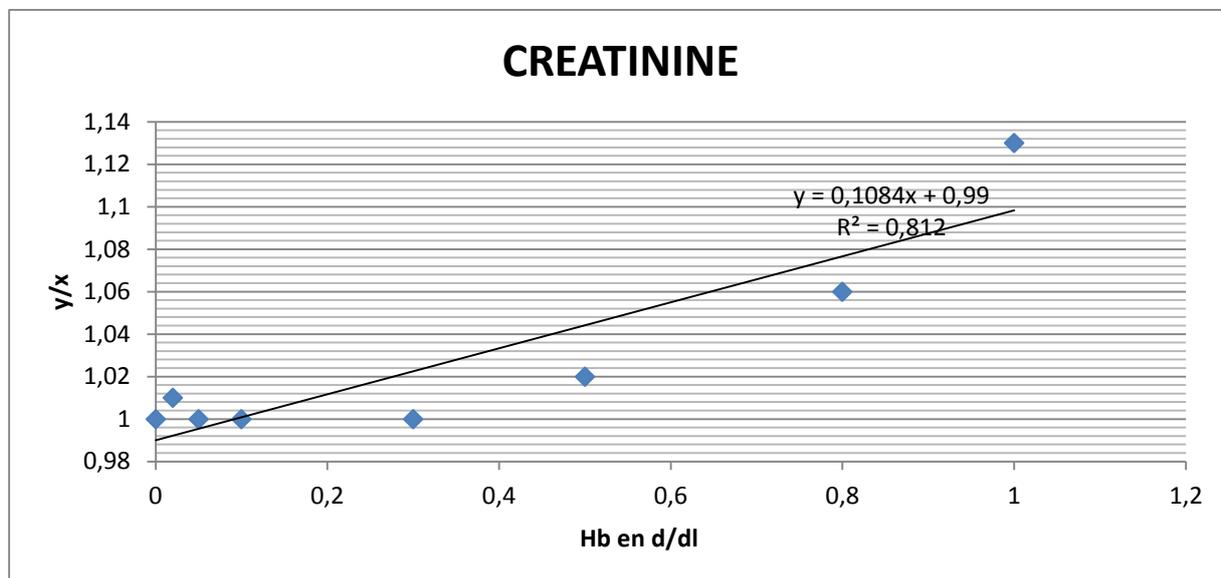
### 10.2. Etude statistique :

#### 10.2.1. Analyse de corrélation

Une bonne corrélation positive a été trouvée entre la variation de la concentration de la créatinine (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = 0.901$  ,  $p = 0.002$ ).

10.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 98% de la variabilité de la concentration de créatinine est due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.812$ ).



**Figure 22:** regression linéaire entre la variation de la concentration de créatinine (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

10.2.3. Test de Friedman

La valeur de p des données sur la concentration des échantillons en hémoglobine est inférieure au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ) ; on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de la créatinine.

**Tableau 27 :** résultat de test de Friedman concernant la concentration de créatinine avant et après l'hémolyse.

Hémoglobine eg/dl	N	Moyenne	Ecart-type	Min	Max	Médiane	p
0	15	13,27	6,76	4,61	30,74	11,77	0,0001
0,02	15	13,35	6,98	4,82	31,3	11,57	
0,05	15	13,25	7,07	4,23	31,51	11,5	
0,1	15	13,33	6,84	4,29	30,62	11,63	
0,3	15	13,27	6,45	4,89	29,18	11,75	
0,5	15	13,57	6,61	5,11	29,33	11,74	
0,8	15	14,06	6,93	5,67	31,97	12,5	
1	15	14,95	7,20	6,16	33,86	13,1	

#### 10.2.4. Test de t Student pour échantillons appariés

Il n'existe pas une différence significative ( $p < 0.05$ ) entre les moyennes de concentration de la créatinine en absence et en présence d'hémoglobine à une concentration inférieure ou égale à 0.5 g/dl.

Une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les moyennes de concentration de la créatinine ne s'observe qu'à partir d'une concentration de 0.8 g/dl d'Hb.

**Tableau 28** : résultat de test de t Student apparié concernant la concentration de créatinine avant et après l'hémolyse

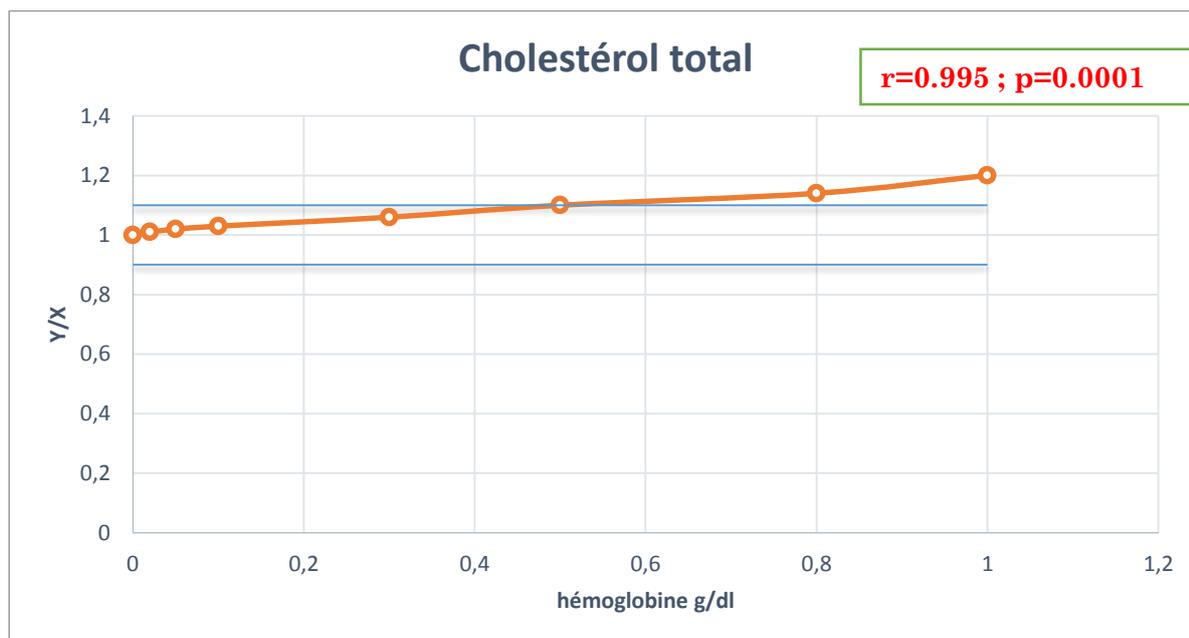
Hémoglobine en (g/dl)	Moyenne	n	Ecart-type	p
0	13,27	15	6,76	0,555
0,02	13,35	15	6,98	
0	13,27	15	6,76	0,88
0,05	13,25	15	7,07	
0	13,27	15	6,76	0,687
0,1	13,33	15	6,84	
0	13,27	15	6,76	0,974
0,3	13,27	15	6,45	
0	13,27	15	6,76	0,148
0,5	13,57	15	6,61	
0	13,27	15	6,76	0.0001
0,8	14,06	15	6,93	
0	13,27	15	6,76	0.0001
1	14,95	15	7,20	

## 11. Interférence de l'hémolyse sur le dosage du cholestérol total :

### 11.1. Résultats expérimentaux

La concentration du cholestérol total a augmenté dans la présente étude, à partir d'une concentration moyenne dans le contrôle de 1.38 g/l jusqu'à 1.65 g/l pour une concentration en hémoglobine comprise de 1g/dl.

Une augmentation de plus de 10% de la concentration du cholestérol total mesurée n'est observée qu'à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.5g/dl,



**Figure 23** : Représentation graphique des résultats de dosage du cholestérol total en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

YX : rapport entre la valeur de cholestérol total obtenue en présence et en absence d'hémoglobine. les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

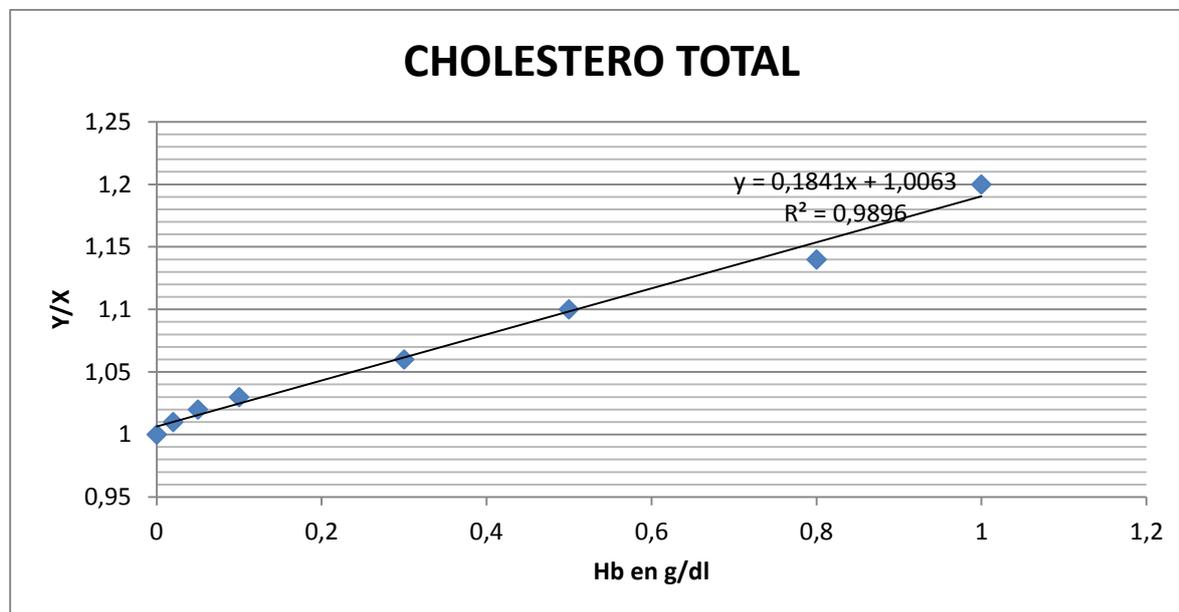
### 11.2 Etude statistique :

#### 11.2.1. Analyse de corrélation

Une corrélation positive parfaite a été trouvée entre la variation de la concentration du cholestérol total (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = 0.995$ ,  $p = 0.0001$ ).

11.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 98% de la variabilité de la concentration du cholestérol totale est due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.9896$ ).



**Figure 24:** regression linéaire entre la variation de la concentration du cholesterol total (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

11.2.3. Test de Friedman

La valeur de p des données sur la concentration des échantillons en hémoglobine est inférieure au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ) ; on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de cholestérol total.

**Tableau 29 :** résultat de test de Friedman concernant la concentration du cholesterol total avant et après l'hémolyse.

Hemoglobine En g/dl	n	Moyenne	Ecart-type	Min	Max	Médiane	p
0	15	1,38	0,270	1,03	1,96	1.39	0,0001
0,02	15	1,40	0,267	1,05	1,96	1.39	
0,05	15	1,41	0,260	1,05	1,97	1.38	
0,1	15	1,42	0,260	1,08	1,98	1.39	
0,3	15	1,46	0,255	1,11	2	1.44	
0,5	15	1,52	0,266	1,16	2,09	1.5	
0,8	15	1,58	0,27	1,2	2,18	1.55	
1	15	1,65	0,273	1,25	2,2	1.63	

#### 11.2.4. Test de Wilcoxon pour échantillons appariés

Il n'existe pas une différence significative ( $p = 0.38$ ) entre la moyenne de concentration de cholestérol total en absence et en présence d'hémoglobine à une concentration de 0.02 g/dl (avant le seuil visuel de détection).

A partir d'une concentration de 0.05 g/dl (après le seuil visuel de détection) et bien que la variation soit tolérée jusqu'à une concentration de 1 g/dl d'Hb, une différence significative ( $p < 0,05$ ) commence à apparaître à partir de ce seuil de 0.05 g/dl.

**Tableau 30** : résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant la concentration d'U cholestérol total avant et après l'hémolyse.

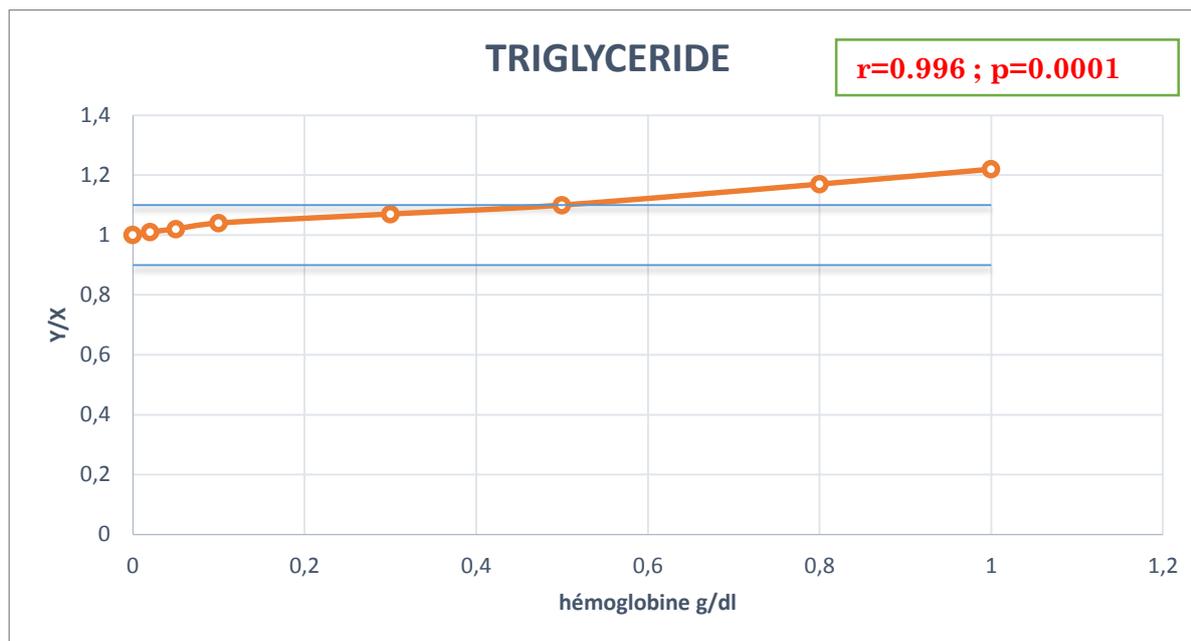
Hémoglobine en (g/dl)	Moyenne	n	Ecart-type	p
0	1,38	15	0,270	0,38
0,02	1,40	15	0,267	
0	1,38	15	0,270	0,018
0,05	1,41	15	0,260	
0	1,38	15	0,270	0.001
0,1	1,42	15	0,260	
0	1,38	15	0,270	0.001
0,3	1,46	15	0,255	
0	1,38	15	0,270	0.001
0,5	1,52	15	0,266	
0	1,38	15	0,270	0.001
0,8	1,58	15	0,275	
0	1,38	15	0,270	0.001
1	1,65	15	0,273	

## 12. Interférence de l'hémolyse sur le dosage du triglycéride

### 12.1. Résultats expérimentaux :

La concentration de triglycéride a augmenté dans la présente étude, à partir d'une concentration moyenne dans le contrôle de 1.50 g/l jusqu'à 1.83 g/l pour une concentration en hémoglobine de 1g/dl.

Une augmentation de plus de 10% de la concentration du triglycéride mesurée n'est observée qu'à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.5g/dl, (après le seuil visuel de détection).



**Figure 25:** Représentation graphique des résultats de dosage du triglycéride en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon

YX : rapport entre la valeur de triglycéride obtenue en présence et en absence d'hémoglobine, Les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

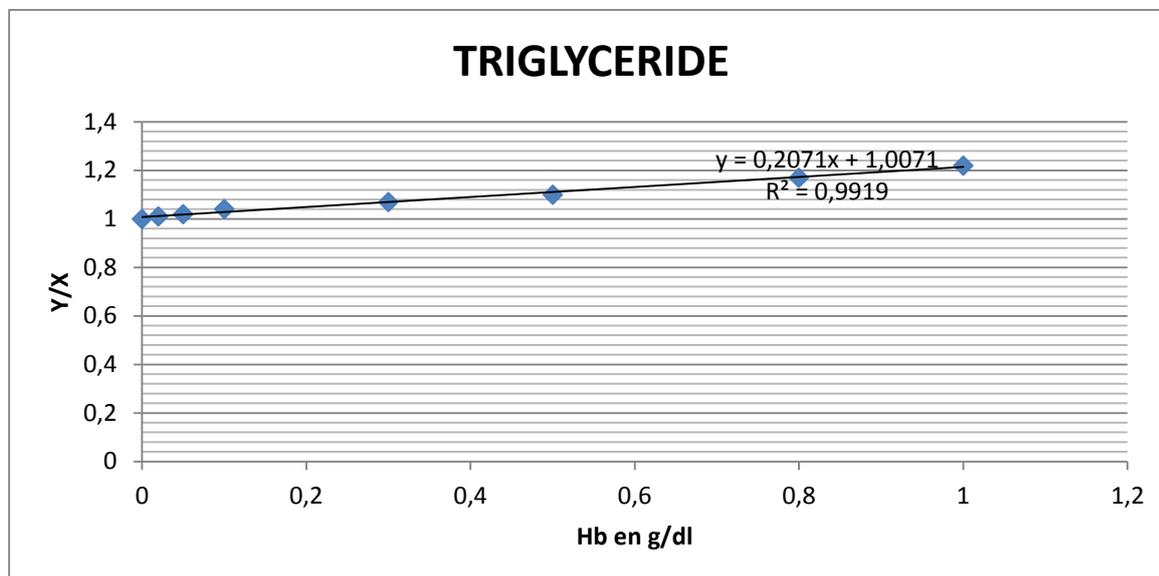
### 12.2. Etude statistique :

#### 12.2.1. Analyse de corrélation

Une corrélation positive parfaite a été trouvée entre la variation de la concentration du triglycéride (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = 0.996$ ,  $p = 0.0001$ ).

12.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 99% de la variabilité de la concentration du triglycéride est due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.9919$ ).



**Figure 26:** regression linéaire entre la variation de la concentration du triglycéride (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

12.2.3. Test de Friedman

La valeur de p des données sur la concentration des échantillons en hémoglobine est inférieure au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ) ; on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de triglycéride.

**Tableau 31 :** résultat de test de Friedman concernant la concentration du triglycéride avant et après l'hémolyse.

Hemoglobine En g/dl	n	Moyenne	Ecart-type	Min	Max	Médiane	p
0	15	1,50	0,463	0,63	2,15	1.57	0,0001
0,02	15	1,52	0,472	0,64	2,16	1.68	
0,05	15	1,54	0,476	0,7	2,18	1.66	
0,1	15	1,55	0,483	0,67	2,2	1.65	
0,3	15	1,61	0,508	0,67	2,25	1.72	
0,5	15	1,66	0,522	0,69	2,35	1.75	
0,8	15	1,75	0,572	0,72	2,77	1.97	
1	15	1,83	0,591	0,72	2,83	2.02	

### 12.2.2 Test de Wilcoxon pour échantillons appariés

Il n'existe pas une différence significative ( $p = 0.18$ ) entre la moyenne de concentration de triglycéride en absence et en présence d'hémoglobine à une concentration de 0.02 g/dl (avant le seuil visuel de détection)

A partir de la concentration de 0.05 g/dl (après le seuil visuel de détection), une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les moyennes de la concentration de triglycéride commence à apparaître.

**Tableau 32** : résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant la concentration de triglycéride avant et après l'hémolyse.

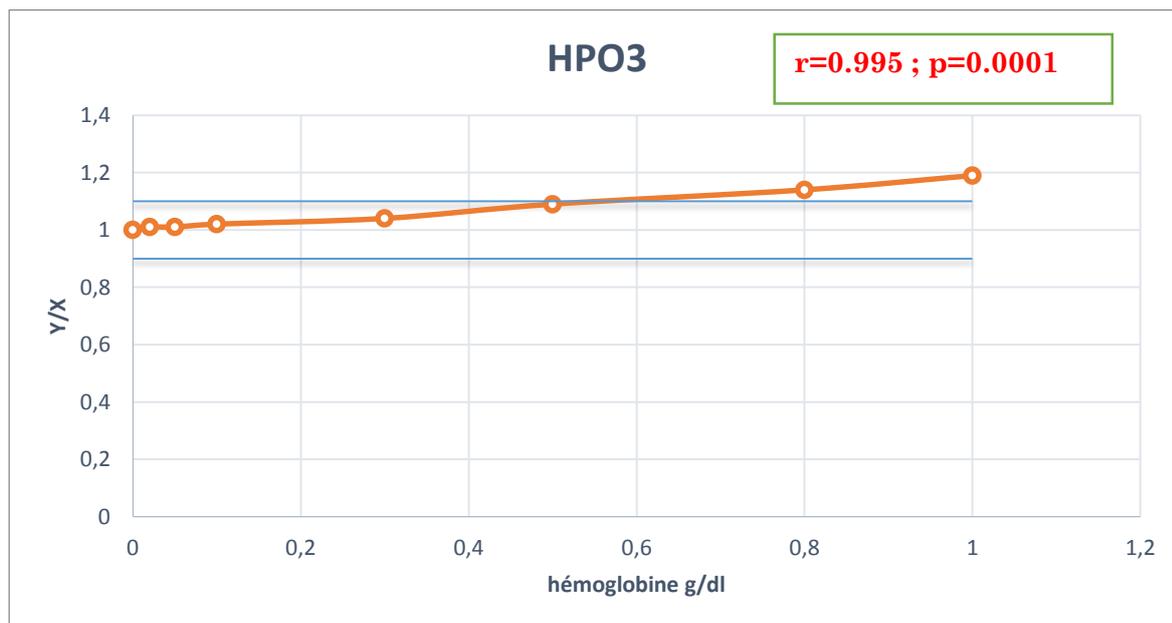
Hémoglobine en (g/dl)	Moyenne	n	Ecart-type	p
0	1,50	15	0,463	0,18
0,02	1,52	15	0,472	
0	1,50	15	0,463	0,03
0,05	1,54	15	0,476	
0	1,50	15	0,463	0,001
0,1	1,55	15	0,483	
0	1,50	15	0,463	0,001
0,3	1,61	15	0,508	
0	1,50	15	0,463	0,001
0,5	1,66	15	0,522	
0	1,50	15	0,463	0,001
0,8	1,75	15	0,572	
0	1,50	15	0,463	0,001
1	1,83	15	0,591	

### 13. Interférence de l'hémolyse sur le dosage du phosphore

#### 13.1 Résultats expérimentaux

La concentration de phosphore a augmenté dans la présente étude, à partir d'une concentration moyenne dans le contrôle de 34.06 mg/l jusqu'à 40.36 mg/l pour une concentration en hémoglobine de 1g/dl.

Une augmentation de plus de 10% de la concentration du phosphore mesurée est notée à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.5g/dl, (après le seuil visuel de détection).



**Figure 27** : Représentation graphique des résultats de dosage du phosphore en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

YX : rapport entre la valeur de phosphore obtenue en présence et en absence d'hémoglobine, les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

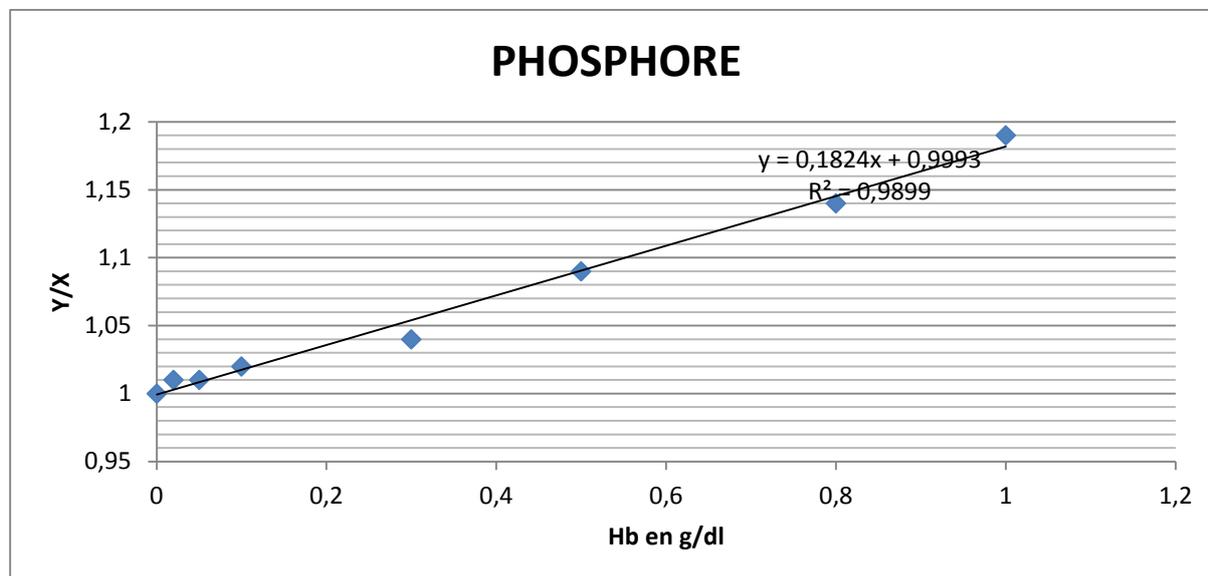
#### 13.2. Etude statistique :

##### 13.2.1. Analyse de corrélation

Une corrélation positive parfaite a été trouvée entre la variation de la concentration du phosphore (Y/X), et le taux d'hémoglobine. (r = 0.995 , p = 0.0001).

13.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 98% de la variabilité de la concentration du phosphore est due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.9899$ ).



**Figure 28 :** regression linéaire entre la variation de la concentration de phosphore(Y/X), et le taux d'hémoglobine.

13.2.1. Test de Friedmen :

La valeur de p des données sur la concentration des échantillons en hémoglobine est inférieure au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ) ; on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de phosphore.

**Tableau 33 :** résultat de test de Friedman concernant la concentration de phosphore avant et après l'hémolyse.

Hémoglobine En g/dl	N	Moyenne	Ecart-type	Min	Max	Médiane	p
0	15	34,06	7,228	24,11	44,41	34.18	0,0001
0,02	15	34,32	7,143	24,49	44,75	34.84	
0,05	15	34,41	7,111	24,47	44,84	37.79	
0,1	15	34,68	7,168	24,59	45	35.33	
0,3	15	35,50	7,321	24,89	46,06	36.79	
0,5	15	37,01	7,665	25,28	47,77	37.25	
0,8	15	38,77	7,648	26,5	49,49	38.2	
1	15	40,36	7,925	27,3	50,92	39.79	

### 13.2.3. Test de Wilcoxon pour échantillons appariés :

Il n'existe pas une différence significative ( $p = 0.11$ ) entre les moyennes de la concentration de phosphore en absence et en présence d'hémoglobine à une concentration de 0.02 g/dl (avant le seuil visuel de détection).

A partir de la concentration de 0.05 g/dl (après le seuil visuel de détection), une différence significative ( $p < 0,05$ ) commence à apparaître à partir de ce seuil de 0.05 g/dl.

**Tableau 34 :** résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant la concentration de phosphore avant et après l'hémolyse.

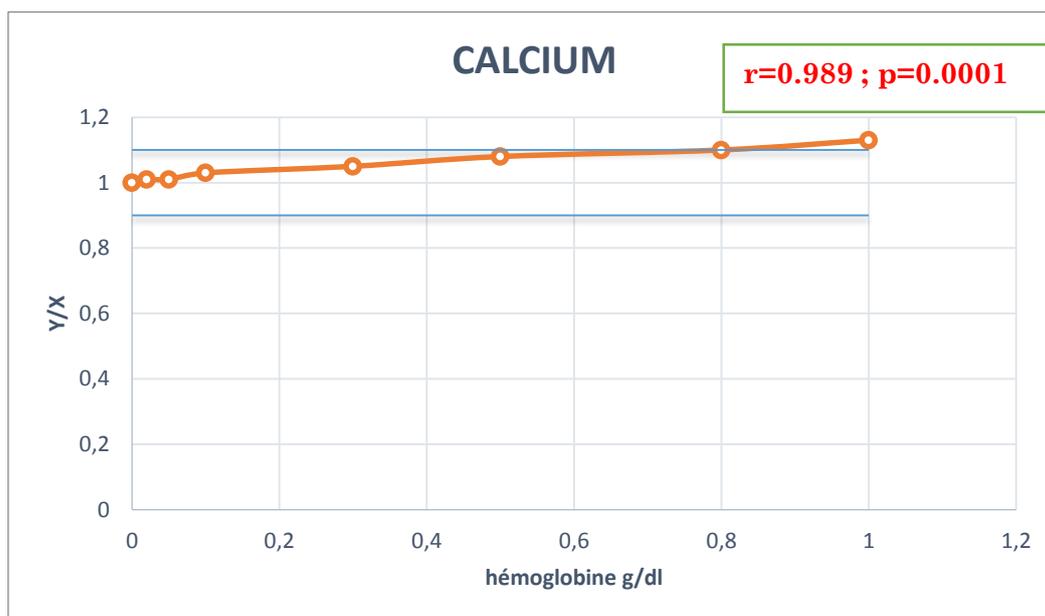
Hémoglobine en (g/dl)	moyenne	n	Ecart-type	p
0	34,06	15	7,228	0,11
0,02	34,32	15	7,143	
0	34,06	15	7,228	0,026
0,05	34,41	15	7,111	
0	34,06	15	7,228	0,001
0,1	34,68	15	7,168	
0	34,06	15	7,228	0.001
0,3	35,50	15	7,321	
0	34,06	15	7,228	0.001
0,5	37,01	15	7,665	
0	34,06	15	7,228	0.001
0,8	38,77	15	7,648	
0	34,06	15	7,228	0.001
1	40,36	15	7,9251	

## 14. Interférence de l'hémolyse sur le dosage du calcium :

### 14.1 Résultats expérimentaux :

La concentration de calcium a augmenté dans la présente étude à partir d'une concentration moyenne dans le contrôle de 90.40 mg/l jusqu'à 102.52 mg/l pour une concentration en hémoglobine de 1g/dl.

Une augmentation de plus de 10% de la concentration du calcium mesurée n'est notée qu'à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.8g/dl, (après le seuil visuel de détection).



**Figure 29:** Représentation graphique des résultats de dosage du calcium en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

YX : rapport entre la valeur de calcium obtenue en présence et en absence d'hémoglobine, les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

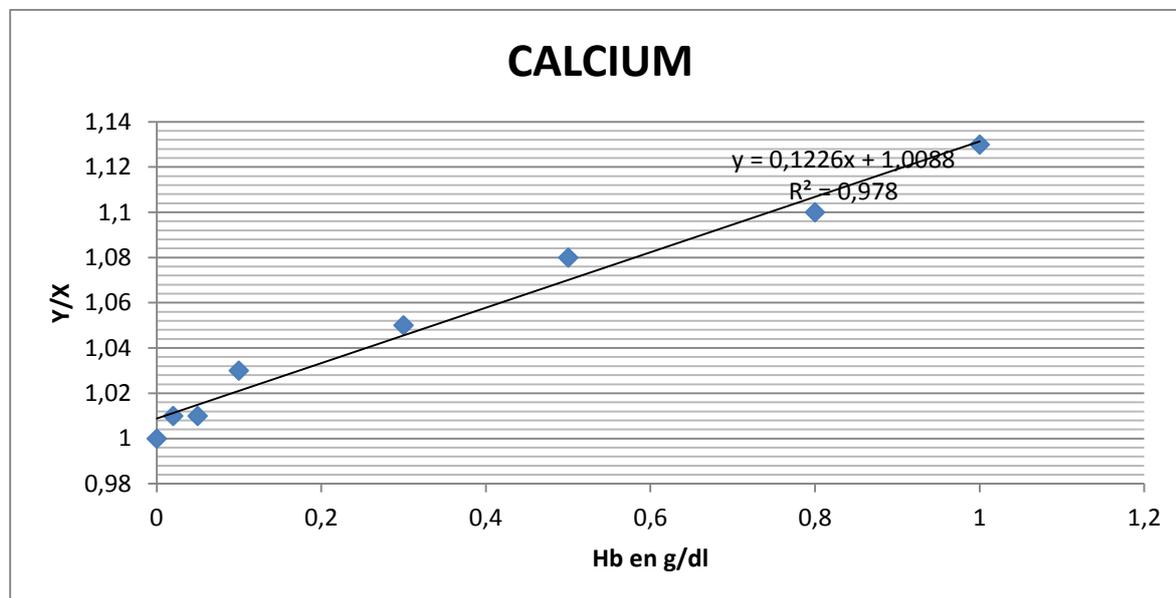
### 14.2. Etude statistique :

#### 7.2.1. Analyse de corrélation

Une corrélation positive parfaite a été trouvée entre la variation de la concentration du calcium (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = 0.989$ ,  $p = 0.0001$ ).

7.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 97% de la variabilité de la concentration du calcium est due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.9768$ ).



**Figure 30** : regression linéaire entre la variation de la concentration du calcium (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

14.2.3. Test de Friedman

La valeur de p des données sur la concentration des échantillons en hémoglobine est inférieure au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ), on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de calcium.

**Tableau 35** : résultat de test de Friedman concernant la concentration du calcium avant et après l'hémolyse.

Hémoglobine En g/dl	n	Moyenne	Ecart- type	Min	Max	Médiane	p
0	14	90.40	6.516	82.56	103.88	88.37	0,0001
0,02	14	91,34	6,091	83,29	106,09	90.84	
0,05	14	91,54	6,315	83,86	107,5	82.28	
0,1	14	92,85	6,181	85,99	105,63	90.65	
0,3	14	94,75	6,176	87,74	107,98	92.77	
0,5	14	98,15	7,948	89,41	112,71	94.05	
0,8	14	99,54	7,863	89,24	114,09	96.67	
1	14	102,52	9,180	92,99	120,6	98.94	

#### 14.2.4. Test de Wilcoxon pour échantillons appariés

Il n'existe pas une différence significative ( $p = 0.14$ ) entre la moyenne de concentration de calcium en absence et en présence d'hémoglobine à une concentration de 0.02 g/dl (avant le seuil visuel de détection)

A partir de la concentration de 0.05 g/dl (après le seuil visuel de détection), une différence significative ( $p < 0,05$ ) commence à apparaître à partir de 0.05 g/dl

**Tableau 36** : résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant la concentration de calcium avant et après l'hémolyse.

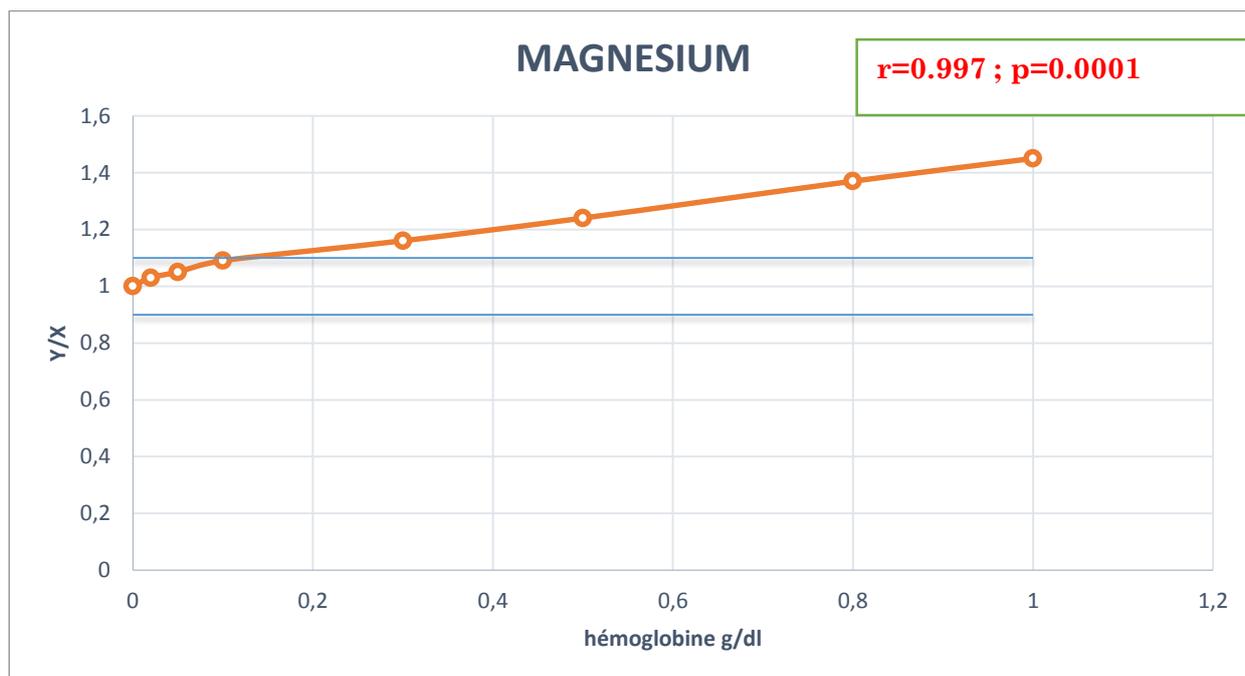
Hémoglobine en (g/dl)	moyenne	n	Ecart-type	p
0	90,4007	14	6,516	0.14
0,02	91,344286	14	6,0910182	
0	90,4007	14	6,516	0,024
0,05	91,5421	14	6,31505	
0	90,4007	14	6,516	0,001
0,1	92,8493	14	6,18183	
0	90,4007	14	6,516	0.001
0,3	94,7486	14	6,17656	
0	90,4007	14	6,516	0.001
0,5	98,146429	14	7,9488912	
0	90,4007	14	6,516	0.001
0,8	99,543571	14	7,8632824	
0	90,4007	14	6,516	0.001
1	102,5186	14	9,18005	

## 15. Interférence de l'hémolyse sur le dosage du magnésium

### 15.1 Résultats expérimentaux

La concentration de magnésium a augmenté dans la présente étude, à partir d'une concentration moyenne dans le contrôle de 22.25 mg/l jusqu'à 35.26 mg/l pour une concentration en hémoglobine de 0.02 g/dl et 1g/dl.

Une augmentation de plus de 10% de la concentration du magnésium mesurée est notée à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.1 g/dl.



**Figure 31:** Représentation graphique des résultats de dosage du magnésium en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon

YX : rapport entre la valeur de magnésium obtenue en présence et en absence d'hémoglobine, Les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

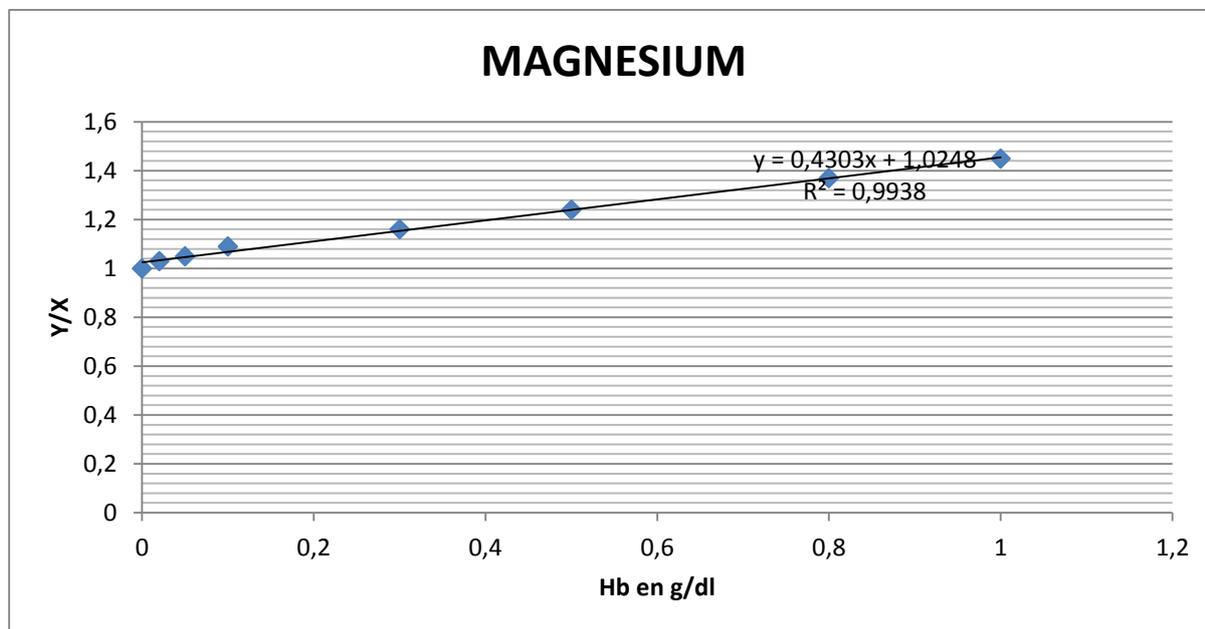
### 15.2. Etude statistique :

#### 15.2.1. Analyse de corrélation

Une corrélation positive parfaite a été trouvée entre la variation de la concentration du magnésium (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = 0.997$ ,  $p = 0.0001$ ).

15.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 99% de la variabilité de la concentration du magnésium est due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.9938$ ).



**Figure 32 :** regression linéaire entre la variation de la concentration du magnésium (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

15.2.1 Test de Friedmen :

**Tableau 37 :** résultat de test de Friedman concernant les concentrations du magésium avant et après l'hémolyse.

Hemoglobine En g/dl	n	Moyenne	Ecart- type	Min	Max	Médiane	p
0	15	22,25	3,343	17,9	30,45	21.54	0,0001
0,02	15	22,92	3,577	18,48	31,74	22.07	
0,05	15	23,21	3,448	19,02	31,14	22.46	
0,1	15	24,25	3,622	19,81	32,2	23.02	
0,3	15	26,16	3,628	21,35	34,55	25.59	
0,5	15	28,18	4,299	23,9	39,1	27.06	
0,8	15	32,14	7,8257	24,85	51,83	29.81	
1	15	35,26	12,322	25,65	73,11	31.45	

### 15.2.2 Test de t Student et Wilcoxon pour échantillons appariés

Toutes les valeurs de p sont  $<0.05$ ; on conclut qu'il existe une différence significative entre les moyennes de concentration de magnésium en absence et en présence d'hémoglobine a des concentrations comprises entre (0g/dl et 1g/dl).

**Tableau 38** : résultat de test de t Student et Wilcoxon appariés concernant les concentration du magnésium avant et après l'hémolyse.

Hémoglobine en (g/dl)	moyenne	N	Ecart-type	P(*)
0	22,25	15	3,343	0,003*
0,02	22,92	15	3,577	
0	22,25	15	3,343	0,002*
0,05	23,21	15	3,448	
0	22,25	15	3,343	0,001*
0,1	24,25	15	3,622	
0	22,25	15	3,343	0.001*
0,3	26,16	15	3,628	
0	22,25	15	3,343	0.0001
0,5	28,18	15	4,299	
0	22,25	15	3,343	0.0001
0,8	32,14	15	7,825	
0	22,25	15	3,343	0,01
1	35,26	15	12,32	

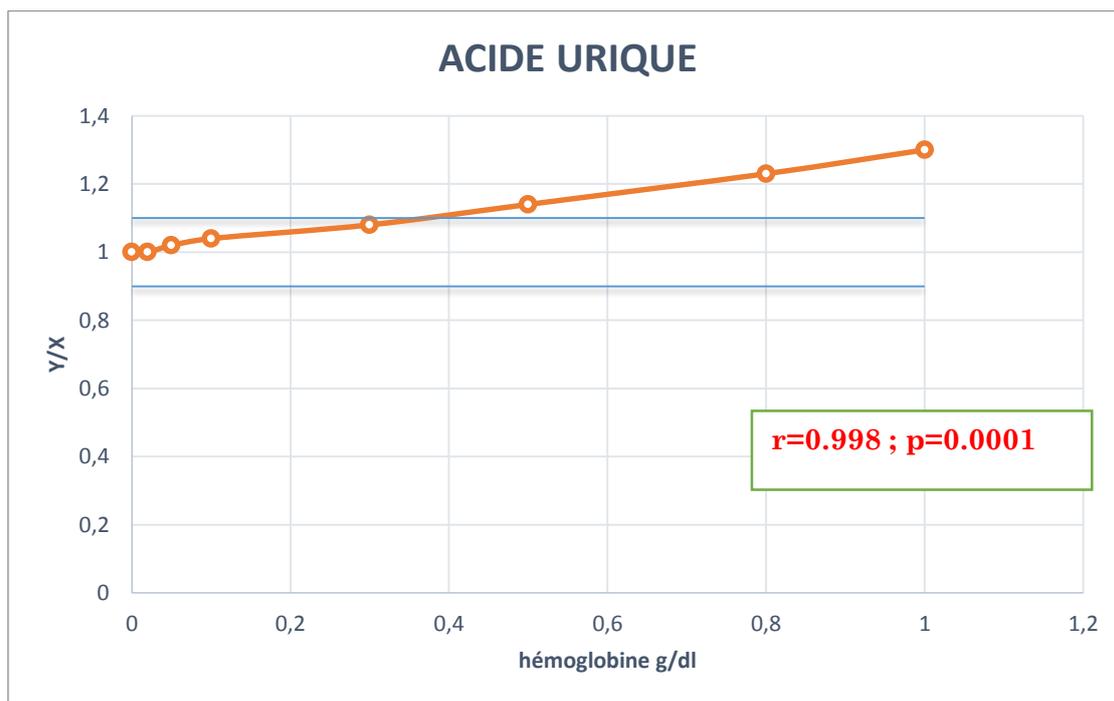
**p\*= test de Wilcoxon**

## 16. Interférence de l'hémolyse sur le dosage de l'acide urique :

### 16.1 Résultats expérimentaux:

La concentration d'acide urique a augmenté dans la présente étude, à partir d'une concentration moyenne dans le contrôle de 43 mg/l jusqu'à 55.7 mg/l pour une concentration en hémoglobine de 1g/dl.

Une augmentation de plus de 10% de la concentration de l'acide urique mesurée est notée à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.4g/dl.



**Figure 33** : Représentation graphique des résultats de dosage de l'acide urique en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

YX : rapport entre la valeur d'acide urique obtenue en présence et en absence d'hémoglobine, Les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

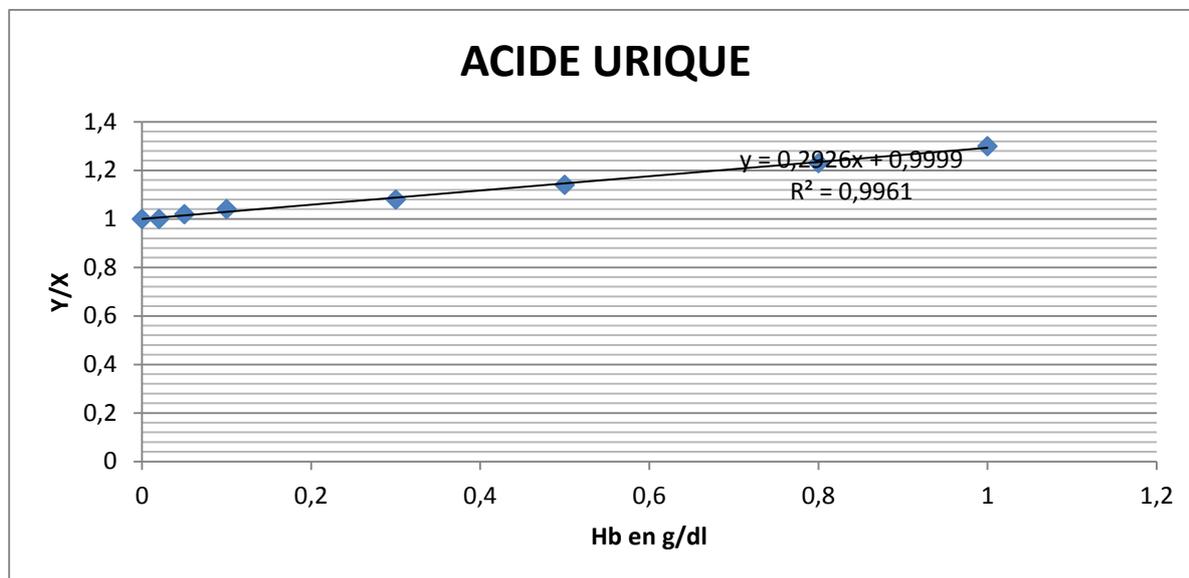
### 16.2. Etude statistique :

#### 16.2.1. Analyse de corrélation

Une corrélation positive parfaite a été trouvée entre la variation de la concentration de l'acide urique (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = 0.998$  ,  $p = 0.0001$ ).

16.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 99% de la variabilité de la concentration de l'acide urique est due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.9961$ ).



**Figure 34:** regression linéaire entre la variation de la concentration de l'acide urique (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

16.2.3. Test de Friedman

La valeur de p des données sur la concentration des échantillons en hémoglobine est inférieure au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ) ; on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de l'acide urique

**Tableau 39 :** résultat de test de Friedman concernant la concentration de l'acide urique avant et après l'hémolyse.

Hémoglobine en g/dl	n	Moyenne	Ecart-type	Min	Max	Médiane	p
0	15	43	13,22	23	71	40	0,0001
0,02	15	42,9	13,33	24	72	40	
0,05	15	43,9	14,03	23	75	41	
0,1	15	44,4	13,55	24	75	42	
0,3	15	46,4	14,14	25	78	45	
0,5	15	49,0	14,36	26	80	48	
0,8	15	52,6	15,53	26	85	49	
1	15	55,7	16,23	26	87	51	

### 16.2.2 Test de Wilcoxon pour échantillons appariés :

Il n'existe pas une différence significative ( $p = 0.97$ ) entre la moyenne de la concentration d'acide urique en absence et en présence d'hémoglobine à une concentration de 0.02 g/dl (avant le seuil visuel de détection).

A partir de la concentration d'Hb de 0.05 g/dl (après le seuil visuel de détection) apparait une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre la moyenne de la concentration d'acide urique en absence ou en présence d'hémoglobine.

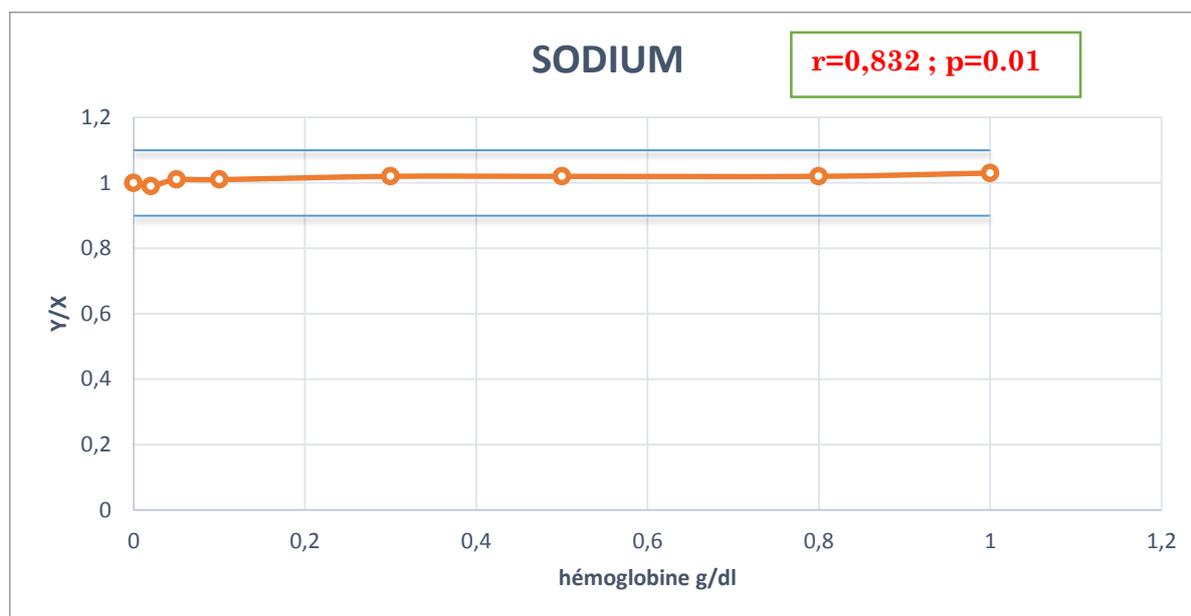
**Tableau 40** : résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant la concentration d'acide urique avant et après l'hémolyse.

Hémoglobine en (g/dl)	moyenne	n	Ecart-type	n
0	43	15	13,22	0,97
0,02	42,9	15	13,33	
0	43	15	13,22	0,02
0,05	43,9	15	14,03	
0	43	15	13,22	0,003
0,1	44,4	15	13,55	
0	43	15	13,22	0,001
0,3	46,4	15	14,14	
0	43	15	13,22	0,001
0,5	49,0	15	14,36	
0	43	15	13,22	0,001
0,8	52,6	15	15,53	
0	43	15	13,22	0,001
1	55,7	15	16,23	

## 17. Interférence de l'hémolyse sur le dosage du sodium :

### 17.1 Résultats expérimentaux :

A partir d'un pool de plasma contrôle dont la natrémie est de 128.86 mEq/L, le graphe suivant permet d'observer, que jusqu'à une concentration en hémoglobine de 1g/dl, aucune variation de la natrémie de plus de plus ou moins 10% n'est notée.



**Figure 35:** Représentation graphique des résultats de dosage du sodium en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

YX : rapport entre la valeur de sodium obtenue en présence et en absence d'hémoglobine, Les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

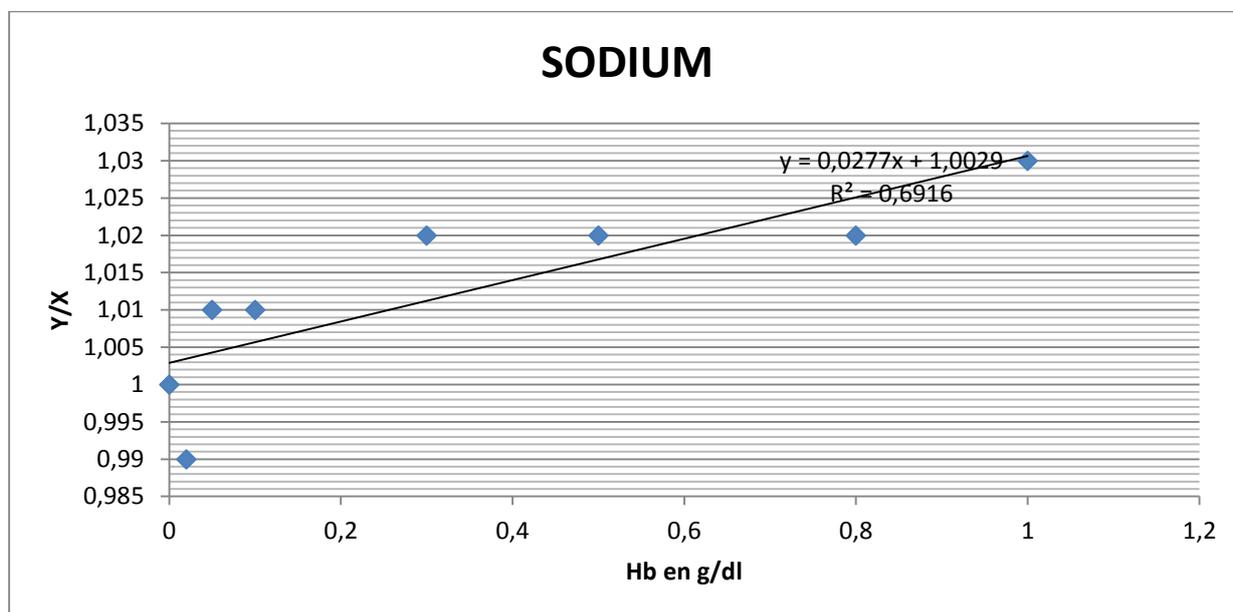
#### 17.1. Etude statistique :

##### 7.2.3. Analyse de corrélation

Une corrélation positive a été trouvée entre la variation de la concentration du sodium (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = 0.832$  ,  $p = 0.01$ ).

7.2.4. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 69% de la variabilité de la concentration du sodium due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.6916$ ).



**Figure 36 :** regression linéaire entre la variation de la concentration du sodium (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

17.2.3. Test de Friedman

La valeur de p des données sur la concentration des échantillons en hémoglobine est inférieure au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ), on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de sodium

**Tableau 41 :** résultat de test de Friedman concernant la concentration du sodium avant et après l'hémolyse.

Hemoglobine En g/dl	N	Moyenne	Ecart-type	Min	Max	Médiane	p
0	15	128,86	4,993	120,7	138,8	128,7	0,0001
0,02	15	128,2	5,273	118,3	138	128,1	
0,05	15	129,62	5,302	120,5	139,1	129,6	
0,1	15	130,39	5,480	122,3	139,5	129,9	
0,3	15	130,84	5,800	122,4	139,2	130,5	
0,5	15	131,94	5,593	122	140,2	132	
0,8	15	132,02	5,378	123,1	141	131,8	
1	15	132,76	5,301	123,8	141,1	132,8	

#### 17.2.4. Test de Wilcoxon pour échantillons appariés

Il n'existe pas une différence significative ( $p = 0.1$ ) entre la moyenne de la concentration de sodium en absence et en présence d'hémoglobine à des concentrations de 0.02 g/dl.

A partir de la concentration de 0.02 g/dl (après le seuil visuel de détection) et bien que la variation soit tolérée jusqu'à une concentration de 1 g/dl, la différence devient significative ( $p < 0,05$ ) entre la moyenne de concentration de sodium en absence et en présence d'hémoglobine à une concentration égale ou supérieur à 0.05 g/dl.

**Tableau 42** : résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant la concentration de sodium avant et après l'hémolyse.

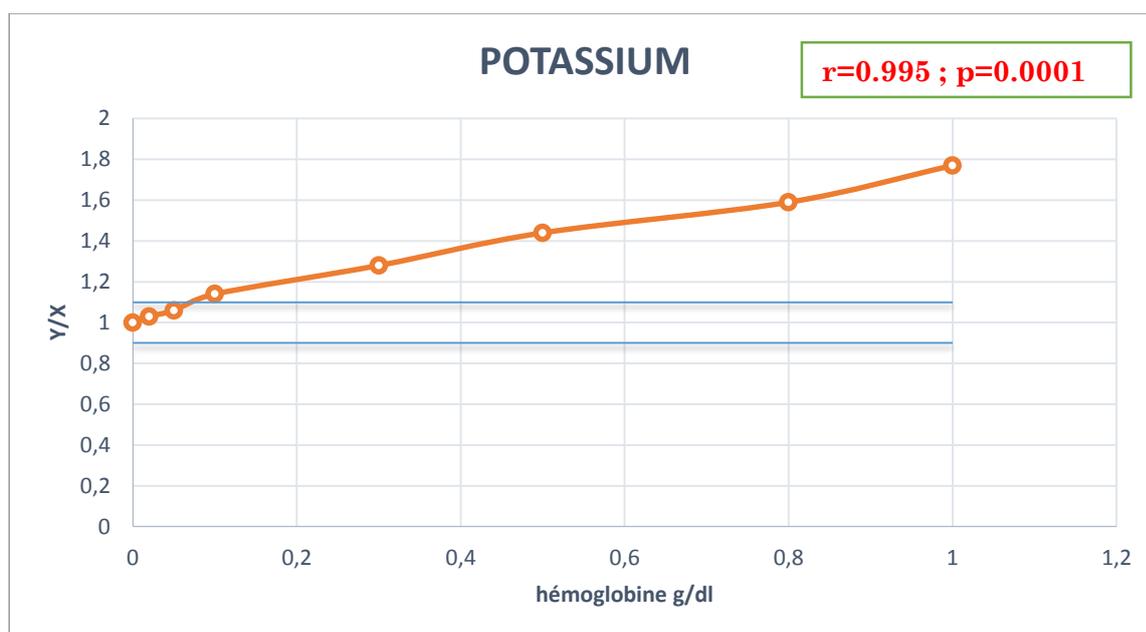
Hémoglobine en (g/dl)	moyenne	n	Ecart-type	p
0	128,86	15	4,993	0,1
0,02	128,2	15	5,273	
0	128,86	15	4,993	0,009
0,05	129,62	15	5,302	
0	128,86	15	4,993	0,001
0,1	130,39	15	5,480	
0	128,86	15	4,993	0,001
0,3	130,84	15	5,800	
0	128,86	15	4,993	0,001
0,5	131,94	15	5,593	
0	128,86	15	4,993	0,001
0,8	132,02	15	5,378	
0	128,86	15	4,993	0,001
1	132,76	15	5,301	

## 18. Interférence de l'hémolyse sur le dosage du potassium :

### 18.1 Résultats expérimentaux

La concentration de potassium a augmenté dans la présente étude, à partir d'une concentration moyenne dans le contrôle de 4.25 mEq/l jusqu'à 7.53 mEq/l pour une concentration en hémoglobine de 1g/dl.

Une augmentation de plus de 10% de la concentration du potassium mesurée est notée à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.08g/dl.



**Figure 37:** Représentation graphique des résultats de dosage du potassium en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

YX : rapport entre la valeur de potassium obtenue en présence et en absence d'hémoglobine, Les traits horizontaux bleus indiquent la zone d'acceptabilité de 10 % soit un rapport compris entre 0,9 et 1,1.

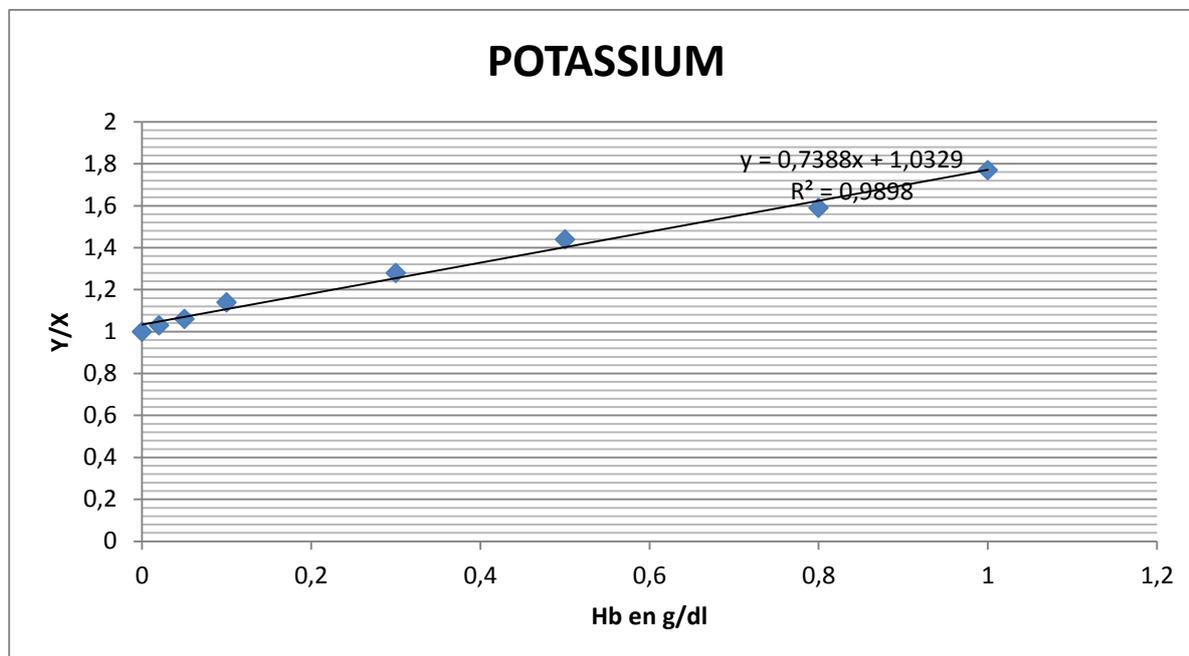
### 18.2. Etude statistique :

#### 18.2.1. Analyse de corrélation

Une corrélation positive parfaite a été trouvée entre la variation de la concentration du potassium (Y/X), et le taux d'hémoglobine. ( $r = 0.995$ ,  $p = 0.0001$ ).

18.2.2. Analyse de la regression lineaire :

L'analyse de la regression lineaire permet de conclure que 98% de la variabilité de la concentration du potassium due a la variation du degérés d'hémolyse ( $R^2=0.9898$ ).



**Figure 38:** regression linéaire entre la variation de la concentration du potassium (Y/X), et le taux d'hémoglobine.

18.2.3. Test de Friedman

La valeur de p des données sur la concentration des échantillons en hémoglobine est inférieure au seuil de signification de 0,05 ( $p = 0.0001$ ) ; on conclut qu'au moins l'une des différentes concentrations en hémoglobine impacte le dosage de potassium.

**Tableau 43** résultat de test de Friedman concernant la concentration de potassium avant et après l'hémolyse.

Hemoglobine En g/dl	n	Moyenne	Ecart-type	Min	Max	Médiane	p
0	15	4,25	0,292	3,81	4,71	4,13	0,0001
0,02	15	4,38	0,293	4,01	4,98	4,29	
0,05	15	4,51	0,281	4,14	5,09	4,43	
0,1	15	4,85	0,414	4,31	5,61	5,02	
0,3	15	5,42	0,442	4,51	5,99	5,61	
0,5	15	6,11	0,539	5,01	6,84	6,38	
0,8	15	6,75	0,542	5,52	7,8	6,93	
1	15	7,53	0,500	6,68	8,88	7,45	

### 18.2.4 Test de Wilcoxon pour échantillons appariés

Toutes les valeurs de p sont =0.001 ; on conclut qu'il existe une différence significative entre les moyennes de concentration de potassium en absence et en présence d'hémoglobine a des concentrations comprises entre (0g/dl et 1g/dl).

**Tableau 44** : résultats du test de Wilcoxon pour échantillons appariés concernant la concentration de potassium avant et après l'hémolyse.

Hémoglobine en (g/dl)	moyenne	n	Ecart-type	p
0	4,25	15	0,292	0,001
0,02	4,38	15	0,293	
0	4,25	15	0,292	0,001
0,05	4,51	15	0,281	
0	4,25	15	0,292	0,001
0,1	4,85	15	0,414	
0	4,25	15	0,292	0,001
0,3	5,42	15	0,442	
0	4,25	15	0,292	0,001
0,5	6,11	15	0,539	
0	4,25	15	0,292	0,001
0,8	6,75	15	0,542	
0	4,25	15	0,292	0,001
1	7,53	15	0,500	

**Tableau 45** : l'influence de l'hémolyse sur 17 paramètres biochimiques, les différences statistiquement significatives ont été évaluées par le test t apparié de Student (\* p<0.05, \*\* p<0.01). Les résultats avec des variations induites par l'hémolyse dépassant 10% sont indiqués en gras.

Analyte	n	La concentration d'hémoglobine sérique							
		témoin	0.02g/dl	0.05g/dl	0.1g/dl	0.3g/dl	0.5g/dl	0.8g/dl	1g/dl
Acide urique, mg/l	15	43±13,2	42,9±13,3	43,9±14,0*	44,4±13,5**	46,4±14,1**	<b>49±14,3**</b>	<b>52,6±15,5**</b>	<b>55,7±16,2**</b>
ALAT, U/l	15	24±27,3	25±28,5	26±29,5*	<b>27±30,2**</b>	<b>33±31,6**</b>	<b>43±31,9**</b>	<b>59±35,2**</b>	<b>75±44,1**</b>
ASAT, U/l	15	60±56,8	64±60,6*	65±61,8*	<b>70±64,5**</b>	<b>80±63,9**</b>	<b>96±63,6**</b>	<b>125±67,7**</b>	<b>153±71**</b>
Cholestérol, g/l	15	1,38±0,27	1,4±0,26	1,41±0,26*	1,42±0,26**	1,46±0,25**	<b>1,52±0,26**</b>	<b>1,58±0,27**</b>	<b>1,65±0,27**</b>
Calcium, mg/l	14	90.40±6,51	91,34±6,09	91,54±6,31*	92,85±6,18**	94,75±6,17**	98,15±7,94**	<b>99,54±7,86**</b>	<b>102,52±9,18**</b>
CPK, U/l	15	160±154,7	165±164,1	168±160,3**	172±160,5**	<b>191±166**</b>	<b>215±164,4**</b>	<b>236±171,2**</b>	<b>259±170,3**</b>
Créatinine, mg/l	15	13,27±6,76	13,35±6,98	13,25±7,07	13,33±6,84	13,27±6,45	13,57±6,61	14,16±6,93**	<b>14,95±7,2**</b>
GGT U/l	15	50±41,4	48±39,2*	45±39,5**	<b>41±36,6**</b>	<b>36±37,2**</b>	<b>30±30,3**</b>	<b>3±7,2**</b>	<b>1±4,3**</b>
Glucose, g/l	15	1,23±0,73	1,25±0,71	1,26±0,72*	1,26±0,71*	1,28±0,71**	<b>1,36±0,74**</b>	<b>1,41±0,74**</b>	<b>1,47±0,76**</b>
LDH, U/l	15	418±149,6	<b>462±161,1**</b>	<b>509±171,6**</b>	<b>608±188,8**</b>	<b>827±279**</b>	<b>1170±455**</b>	<b>1607±616,6**</b>	<b>2338±938,8**</b>
Magnésium	15	22,25±3,34	22,92±3,57	23,21±3,44*	24,25±3,62**	<b>26,16±3,62**</b>	<b>28,18±4,29**</b>	<b>32,14±7,82**</b>	<b>35,26±12,32**</b>
PAL, U/l	15	156±47,6	151±45,5*	147±45,6**	<b>137±42,6**</b>	<b>116±33,7**</b>	<b>102±33**</b>	<b>79±32,5**</b>	<b>54±36,4**</b>
Phosphore, mg/l	15	34,06±7,22	34,32±7,14	34,41±7,11*	34,68±7,16**	35,5±7,32**	37,01±7,66**	<b>38,77±7,64**</b>	<b>40,36±7,92**</b>
Potassium, mEq/l	15	4,25±0,29	4,38±0,29**	4,51±0,28**	<b>4,85±0,41**</b>	<b>5,42±0,44**</b>	<b>6,11±0,53**</b>	<b>6,75±0,54**</b>	<b>7,53±0,5**</b>
Triglycéride, g/l	15	1,5±0,46	1,52±0,47	1,54±0,47*	1,55±0,48**	1,61±0,50**	<b>1,66±0,52**</b>	<b>1,75±0,57**</b>	<b>1,83±0,59**</b>
Sodium, mEq/l	15	128,86±4,9	128,2±5,2	129,62±5,3	130,39±5,4**	130,84±5,8**	131,94±5,5**	132,02±5,3**	132,76±5,3**
Urée, g/l	15	0,565±0,396	0,57±0,395	0,568±0,401	0,57±0,398	0,575±0,393**	0,578±0,4**	0,588±0,407**	0,589±0,4**

# Discussion

- L'analyse des résultats montre que l'hémolyse impacte de façon positive la détermination des activités enzymatiques : ASAT, ALAT et LDH.

Cette augmentation était attendue principalement parce que l'activité de ces enzymes est plus grande dans les érythrocytes que dans le plasma. Il s'agit donc d'une interférence d'apport.

Cette influence est plus franche sur l'activité de la LDH (pourcentage de variation = 467) (Annexe C) enzyme dont l'activité intra-érythrocytaire est 160 fois plus importante que l'activité plasmatique, elle est aussi 40 fois plus grande que l'activité ASAT et 7 fois plus grande que l'activité ALAT intra érythrocytaires [25,28]. Des résultats comparables ont été rapportés par plusieurs études, Damien et al. (2015) [29], montrent que la LDH augmente proportionnellement au degré d'hémolyse, ils trouvent qu'une augmentation de plus de 10 % de l'activité mesurée est notée avec une concentration en hémoglobine de 0,01 g/dl, donc bien avant le seuil visuel de détection.

Frank et al (1978) [30], ont également évalué l'effet de l'hémolyse in vitro sur le dosage des enzymes sériques, ils trouvent que la LDH semble être la plus sensible à l'hémolyse (l'activité enzymatique de LDH augmente de 260 U/l pour une concentration en hémoglobine de 0.009 g/dl jusqu'à 650 UII pour une concentration de 0.3 g/dl en hémoglobine dans le sérum).

Yucel et Dalva (1992), [31] dans une étude qui évalue les effets de l'hémolyse sur les résultats de 25 tests biochimiques courants, où ils ont utilisé 60 échantillons de sang de patients hospitalisés et ambulatoires, et où l'hémolyse a été provoqué mécaniquement, montrent que les valeurs de la LDH étaient significativement augmentées même dans des échantillons modérément hémolysés,

Dans notre série, l'augmentation de l'ASAT au-delà du seuil de tolérance était observée au-dessus du seuil de visibilité de l'hémolyse, Damien et al (2015), [29] et Giuseppe Lippi (2006), [25] trouvent plutôt que l'ASAT augmente statistiquement à des degrés d'hémolyse encore plus bas (avant le seuil visuel d hémolyse).

Cette différence peut être expliquée par la différence des activités enzymatiques initiales dans le pool du contrôle : 20 UI pour l'étude de Damien et al et 22 U/l pour l'étude de Giuseppe Lippi contre 60 UI dans notre étude, en effet, comme il s'agit d'une interférence d'apport, l'influence de l'hémolyse apparait plus précocement que la différence de l'activité enzymatique intra-érythrocytaire et plasmatique est plus grande.

En ce qui concerne le sens d'interférence de l'hémolyse sur la détermination des activités enzymatique des transaminases, des résultats comparables ont été rapportés par Giuseppe Lippi (2006) [25]. Ils trouvent que l'hémolyse interfère de façon positive et proportionnelle à la concentration en hémoglobine.

Par contre Damien et al montre que l'augmentation des activités des transaminases est proportionnelle au degré d'hémolyse jusqu'à la concentration en

hémoglobine de 0.5 g/dl pour l'ASAT et 0.8 g/dl pour l'ALAT, au-delà de ces concentrations en hémoglobine l'évolution des activités des transaminases diminuent avec l'augmentation de degrés d'hémolyse (Annexe G).

Dans une autre étude Yucel et Dalva [31] ont obtenu des valeurs légèrement augmentées ; cependant, ces résultats n'étaient pas statistiquement significatifs ( $P > 0,05$ ), contrairement à notre étude où l'augmentation était statistiquement significative ( $P < 0,05$ ).

Cette différence entre ces études peut être expliquée par le procédure de dosage des transaminases, l'IFCC a recommandé des procédures standardisées pour le dosage des transaminases (Annexe D) et montre que le phosphore impacte le dosage des transaminases, ainsi le phosphore inhibe l'activité des transaminases par antagonisme avec le phosphate pyridoxal (coenzyme des transaminase) [32-34].

La comparaison du profil de l'évolution de la concentration du phosphore avec les profils des transaminases dans notre étude, Giuseppe Lippi [25], et Damien et al. [29] (Annexe E, F, et G) respectivement, montre des résultats compatibles avec l'explication ci-dessus.

Le phosphore dans l'étude de Damien et al a été augmenté d'une façon assez importante (une augmentation que nous n'avons pas atteint dans notre expérience); une augmentation de 20% de la concentration mesuré en phosphore est notée avec une concentration en hémoglobine de 0.5 g/dl contre 9% dans notre étude, au-delà de cette concentration du phosphore on observe une diminution de l'activité de l'ASAT proportionnel à l'augmentation de degrés de l'hémolyse.

La même observation pour l'ALAT mais au-delà d'une augmentation de 50% de la concentration mesurée en phosphore.

Cette diminution des activités des transaminases n'a pas été observé dans notre étude, ni par Giuseppe Lippi [25],

- Une augmentation de la CPK est observée à partir d'une concentration de 0.15g/dl, cette augmentation est principalement due à un effet analytique en effet, cette enzyme dont la concentration intra-érythrocytaire est nulle n'est pas reléguée lors de la lyse des globules rouges.

L'augmentation serait plutôt due au relargage d'adénylate kinase par l'érythrocyte ; une enzyme catalyse la transformation de 2 ADP en 1 ATP et 1 AMP. L'ATP étant lui-même un produit d'une des réactions de dosage utilisé dans cette méthode enzymatique, la mesure de l'activité CPK se trouve donc majorée. [29,35]

Des résultats parfaitement en accord ont été rapportés par Giuseppe Lippi (2006) et Damien et al. (2015), qui trouvent qu'à partir d'une valeur normale de CPK (98U/l pour Damien et 118 U/l pour Giuseppe) l'hémolyse interfère évidemment de façon positive. Une augmentation de plus de 10% de l'activité mesurée est notée

avec une concentration en hémoglobine de 0.13 g/dl (0.15g/dl pour notre étude). Cette augmentation est proportionnelle au degré d'hémolyse.

- Dans notre étude, une augmentation de la glycémie commence à être observée à partir d'un taux d'Hb de 0.5g/dl. le glucose a été déterminé par une méthode colorimétrique à 505 nm, L'hémoglobine présente aussi un pic d'absorbance à cette longueur d'onde

En plus de l'interférence physique, il existe un autre mécanisme d'interférence du aux propriétés peroxidasiques de l'hémoglobine.

Des résultats comparables ont été rapportés par Brent Thomas et Carl Robinson (2002) qui montrent que l'hémolyse impacte positivement le dosage du glucose par méthode colorimétrique (505 nm), ils trouvent qu'une augmentation de plus de 10 % de l'activité mesurée est notée avec une concentration en hémoglobine de 0.8 g/dl [37].

Damien et al. (2015), [29] rapportent des résultats différents. Ils trouvent que l'hémolyse n'interfère pas sur le dosage de la glycémie pour des concentrations de 1.26 et 2.88 g/l (1.23 dans notre étude). ils ont utilisé une méthode enzymatique en UV 340nm (une longueur d'onde qui se situe en dehors de la zone d'absorbance d'hémoglobine (415-578 nm)).

Une légère surestimation qui ne dépasse pas 15% n'était pas proportionnelle au degrés d'hémolyse a été observée pour une faible concentration en glucose 0.6g/dl. Cette surestimation n'était pas cliniquement significative.

Des résultats différents ont été rapportés par Giuseppe Lippi (2006) qui a utilisé pour le dosage du glucose une méthode enzymatique en UV (340 nm), il montre qu'il n'existe aucune différence cliniquement significative.

Cette différence entre les études peut être expliquée par la méthode du dosage utilisé :

- Pour une méthode colorimétrique (505 nm) une interférence spectrale est la cause de la surestimation de la concentration de glucose.
  - Pour une méthode enzymatique (340nm) aucune interférence sur l'estimation du glucose.
- L'analyse des résultats montre que l'hémolyse impacte d'une façon négative la détermination des activités enzymatiques : PAL et GGT.

Cette interférence peut être expliquée par un chevauchement spectral et par une réaction chimique entre l'hémolysât et les composants de la réaction.

Damien et al. (2015), [29] trouvent que l'activité GGT est impactée de façon négative par l'hémolyse uniquement pour des hémolyses importantes correspondant à une hémoglobiniémie supérieure à 0.8g/dl. ils trouvent aussi que

la mesure de l'activité PAL est impactée de façon négative par l'hémolyse, mais uniquement pour une activité PAL normale. En effet pour une activité PAL à 60 U/l, il y a diminution de l'activité mesurée à partir d'une concentration en hémoglobine de 0.23 g/dl. Par contre, pour une activité PAL élevée (227 et 900 UI/L), aucun impact de l'hémolyse n'est retrouvé quelle que soit la valeur d'hémoglobine testée sur une gamme de 0 à 3.22 g/dl.

Des résultats concordants ont été rapportés par Giuseppe Lippi (2006) [25] qui montrent que la GGT et la PAL diminuent proportionnellement au degré d'hémolyse, ils trouvent qu'une diminution de plus de 10 % de l'activité mesurée des deux enzymes est notée avec une concentration en hémoglobine de 0.26 g/dl.

- D'après les résultats de notre étude le cholestérol et les triglycérides sont influencés positivement par l'hémolyse.

L'interférence de l'hémolyse observée est principalement due à un effet pré-analytique. La lyse des érythrocytes provoque la libération du cholestérol et des acides gras, des constituants importants des membranes. Il s'agit donc d'une interférence d'apport.

L'interférence est ainsi positive et proportionnelle à l'importance de l'hémolyse, elle impacte d'autant plus le dosage que le paramètre est en faible concentration.

Des résultats parfaitement en accord ont été rapportés par Damien et al. (2015), qui montrent que l'hémolyse impacte positivement le dosage du cholestérol et des triglycérides et la valeur d'hémoglobinémie à partir de laquelle ils ont observé une augmentation de mesure de plus de 10 % dépend de la valeur du cholestérol et de triglycéride de l'échantillon.

Pour une valeur de cholestérol de 1.43 g/l, l'interférence apparaît pour une valeur d'hémoglobine de 0.8g /dl tandis qu'elle apparaît dès 0.3g/dl lorsque la concentration du cholestérol est plus faible 0.84 g/l.

Pour une valeur de triglycérides normale, l'interférence apparaît pour une valeur d'hémoglobinémie de 0.6g/dl.

- L'analyse des résultats montre que l'hémolyse impacte de façon positive la détermination des concentrations du phosphore.

L'interférence de l'hémolyse observée sur le dosage du phosphore est principalement due à un effet pré-analytique. Après hydrolyse, des groupements phosphates intra-érythrocytaire sont relargués. Il s'agit donc d'une interférence d'apport. L'interférence est ainsi positive et proportionnelle à l'importance de l'hémolyse.

Des résultats comparables ont été rapportés par, Damien et al. (2015), [29] ils montrent que le phosphore augmente de façon assez importante et proportionnel au degré d'hémolyse, ils trouvent qu'une augmentation de plus de 10 % de l'activité mesurée est notée avec une concentration en hémoglobine de 0.16g/dl.

Giuseppe Lippi (2006) [25] trouve aussi que le phosphore augmente proportionnellement au degré d'hémolyse, et une augmentation de plus de 10 % de la concentration mesurée est notée avec une concentration en hémoglobine de 0.51 g/dl.

- L'analyse des résultats montre que l'hémolyse impacte de façon positive la détermination des concentrations du magnésium.

L'interférence de l'hémolyse observée sur le dosage du magnésium est principalement due à une interférence d'apport. Le magnésium dont la concentration intra-érythrocytaire est 3 fois supérieur à celle du plasma, est relargué lors de la lyse des globules rouges. L'interférence est ainsi positive et proportionnelle à l'importance de l'hémolyse.

Des résultats comparables ont été rapportés par, Damien et al. (2015), [29] qui montrent que le magnésium augmente proportionnellement au degré d'hémolyse, ils trouvent qu'une augmentation de plus de 10 % de l'activité mesurée est notée avec une concentration en hémoglobine de 0.8g/dl,

Giuseppe Lippi (2006) [25] montre aussi que le magnésium augmente proportionnellement au degré d'hémolyse, ils trouvent qu'une augmentation de plus de 10 % de la concentration mesurée est notée avec une concentration en hémoglobine 0.26 g/dl.

- L'analyse des résultats montre que l'hémolyse impacte de façon positive sur la détermination des concentrations du calcium.

Des résultats différents ont été rapportés par, Damien et al. (2015) [29]., montre que l'hémolyse n'a aucune interférence sur la mesure du calcium par la méthode colorimétrique NM-BAPTA a 340 nm.

Giuseppe Lippi (2006) montre aussi l'absence d'interférence de l'hémolyse sur le dosage du calcium par une méthode colorimétrique d'ortho cresol phtaleine (570 nm).

- L'analyse des résultats montre que l'hémolyse impacte de façon positive la détermination des concentrations de l'acide urique.

L'interférence de l'hémolyse observée sur le dosage de l'acide urique est principalement due à une interférence physique mais aussi chimique. En effet le dosage de l'acide urique est basé sur la réaction finale de Trinder, laquelle est significativement influencée par les propriétés chromogéniques et peroxydasiques de l'hémoglobine [17,36].

Ce résultat est concordant avec celui de L. Benchekroun 2007 [36] qui a trouvé une augmentation significative de l'acide urique après hémolyse.

Des résultats différents ont été rapportés par, Damien et al. (2015) et Giuseppe Lippi (2006), [29,25] qui trouvent que l'hémolyse n'a aucune interférence sur la mesure de l'acide urique par la méthode enzymatique uricase-peroxydase.

- L'analyse des résultats montre que l'hémolyse impacte de façon positive la détermination des concentrations de la créatinine et cette interférence n'apparaît qu'à des concentrations élevées en hémoglobine 1g/dl.

L'interférence tardive de l'hémolyse observée est principalement due à un effet pré-analytique. La créatinine intra érythrocytaire, 1,6 [29]. fois plus concentrée que dans le sérum, est relarguée lors de la lyse des globules rouges. Il s'agit donc d'une interférence d'apport se manifestant uniquement pour une importante lyse des globules rouges donc négligeable en pratique courante.

Des résultats comparables ont été rapportés par, Damien et al. (2015) [29]. qui montrent que, Selon la valeur de la créatinine, l'hémolyse interfère de façon positive sur la mesure. En effet, pour une valeur de créatinine normale (62  $\mu\text{mol/L}$ ), l'interférence apparaît pour une valeur d'hémoglobinémie de 700  $\mu\text{mol/L}$  (11,3 g/L), tandis qu'aucune interférence n'est observée jusqu'à plus de 1.6 g/dl d'hémoglobine pour une valeur de créatinine de 30 mg/L.

- Parmi les analytes évalués, l'urée et le sodium sont les seuls paramètres où l'hémolyse n'impacte pas leurs dosages même à des concentrations élevées en hémoglobine.

Des résultats parfaitement en accord ont été rapportés par Damien et al [25], ils montrent que l'hémolyse n'a aucune interférence sur la détermination du sodium et de l'urée.

- Il y avait une augmentation très significative des concentrations moyennes de K<sup>+</sup> à des degrés très bas d'hémolyse. La concentration de potassium dans cette étude est statiquement augmenté de façon très significative à 0.02 g / dL d'Hb libre.

Cette augmentation est évidente et tout à fait attendue, étant donné que le K<sup>+</sup> est le principal ion intracellulaire, en effet sa concentration est d'environ 20 fois plus élevée que dans le plasma.

Des résultats parfaitement en accord ont été rapportés par Giuseppe Lippi (2006)[25].qui montre que l'hémolyse impacte positivement le dosage de potassium ,il trouve qu'une augmentation statiquement significative de la concentration mesurée est notée avec une concentration en hémoglobine de 0.016 g/dl , donc bien avant le seuil visuel de détection.

Une autre étude de Brent Thomas Carl Robinson (2002) montre que l'hémolyse impacte positivement le dosage de potassium, mais l'augmentation significative de la concentration de potassium n'est notée qu'avec une concentration en hémoglobine de 0.8 g/dl.

# Conclusion

La qualité des analyses de biologie médicale implique la maîtrise de la phase pré-analytique. Celle-ci doit requérir toutes les attentions car elle conditionne de manière importante la qualité du résultat et par là la prise en charge diagnostique et thérapeutique du patient.

L'hémolyse a toujours été un problème pour les laboratoires cliniques, ce qui indique la nécessité de l'élaboration d'une stratégie ayant but la garantie de la qualité au niveau des laboratoires biologiques. Cette stratégie met en place un manuel de prélèvement précisant, les conditions particulières de prélèvement (accueil du patient, type de tube, identification, ordre, délai de transport, de température de conservation de l'échantillon selon les paramètres à doser) d'une part ; d'autre part faire une formation continue pour les personnels de laboratoire. Dans notre étude, nous avons analysé l'impact de l'hémolyse, sur les dosages biochimiques fréquemment demandés en urgence comme en routine au sein de notre laboratoire. Nous concluons que l'hémolyse affecte la concentration plasmatique de la plupart de paramètres biochimiques testés dans notre gamme, alors que l'effet le plus important de l'hémolyse est observé sur les activités enzymatiques et le potassium.

# Bibliographie

1. L'importance de la qualité au laboratoire - World Health Organization.  
[www.who.int/ihr/training/laboratory\\_quality/1\\_b\\_content\\_introduction\\_fr.pdf](http://www.who.int/ihr/training/laboratory_quality/1_b_content_introduction_fr.pdf).
2. Guide préanalytique Recommandations préanalytique (Accompagnement vers l'accréditation).
3. Nke Ateba G1, Okomo Assoumou Mc1, Adiogo D1, Bombah Yangrelo J1  
Évaluation de la Phase Pré-Analytique dans quelques Laboratoires d'Analyses Médicales de la Ville de Yaoundé
4. Damien et al Interférence de l'hémolyse, de la lipémie et de l'ictère sur le dosage des principaux paramètres biochimiques 2015 P.10
5. Guder WG, Narayanan S, Wisser H, Zawta B. Samples : from the patient to the laboratory. Darmstadt, Git Verlag GMBH 1996 : 101p.
6. Togni G, Volken C, Sabo G. Préanalytique. Forum Med Suisse 2002 ; 6 : 113-12
7. Bonini P, Plebani M, Ceriotti F, Rubboli F. Errors in laboratory medicine. Clin Chem 2002;48:691–8
8. Heslop L. A discursive exploration of nursing work in the hospital emergency setting. Nursing Inquiry 1998 ; 5 : 87-95.
9. Lippi G, Blanckaert N, Bonini P, Green S, Kitchen S, Palicka V, et al. Haemolysis: an overview of the leading cause of unsuitable specimens in clinical laboratories. Clin Chem Lab Med 2008;46:764–772.
10. Lippi G, Plebani M, Di Somma S, Cervellin G. Hemolyzed specimens: a major challenge for emergency departments and clinical laboratories. Crit Rev Clin Lab Sci 2011;48:143–153
11. Guder W. Haemolysis as an influence and interference factor in clinical chemistry. J Clin Chem Clin Biochem 1986;24:125–126.
12. Lippi G, Guidi GC, Mattiuzzi C, Plebani M. Preanalytical variability: the dark side of the moon in laboratory testing. Clin Chem Lab Med 2006;44:358–365.
13. Lippi G, Guidi GC. Risk management in the preanalytical phase of laboratory testing. Clin Chem Lab Med 2007;45:720–727
14. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Franchini M, Guidi GC. Venous stasis and routine hematologic testing. Clin Lab Haematol 2006;28:332–337.
15. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Brocco G, Guidi GC. Influence of short-term venous stasis on clinical chemistry testing. Clin Chem Lab Med 2005;43:869–875.
16. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Guidi GC. Short-term venous stasis influences routine coagulation testing. Blood Coagul Fibrinolysis 2005;16:453–458.

17. Giuseppe Lippi • Gianfranco Cervellin • Emmanuel J. Favalaro • Mario Plebani  
In Vitro and In Vivo Hemolysis An Unresolved Dispute in Laboratory Medicine
18. Rosenfeld G, Schenberg S, Nahas L. Fluid absorption by red blood cells and hemolysis in experimental venous stasis. *Mem Inst Butantan* 1957 1958;28:237–244.
19. Saleem S, Mani V, Chadwick MA, Creanor S, Ayling RM. A prospective study of causes of haemolysis during venepuncture: tourniquet time should be kept to a minimum. *Ann Clin Biochem* 2009;46(Pt 3):244–246.
20. Tamechika Y, Iwatani Y, Tohyama K, Ichihara K. Insufficient filling of vacuum tubes as a cause of microhemolysis and elevated serum lactate dehydrogenase levels. Use of a data-mining technique in evaluation of questionable laboratory test results. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:657–661
21. Mensel B, Wenzel U, Roser M, Lüdemann J, Nauck M. Considerably reduced centrifugation time without increased hemolysis: evaluation of the new BD Vacutainer SSTTMII Advance. *Clin Chem* 2007;53:794–795
22. Thomas L. Haemolysis as influence and interference factor. *eJIFCC* vol 13 no 4. Available.
23. Selby C. Interference in immunoassay. *Ann Clin Biochem* 1999;36:704–721.
24. Grafmeyer D, Bondon M, Manchon M, Levillain P. The influence of bilirubin, haemolysis and turbidity on 20 analytical tests performed on automatic analysers. Results of an interlaboratory study. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1995;33:31–52.
25. Lippi G, Salvagno GL, Montagnana M, Brocco G, Guidi GC. Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. *Clin Chem Lab Med* 2006;44:311–316 106
26. Jay D, Provasek D. Characterization and mathematical correction of hemolysis interference in selected Hitachi 717 assays. *Clin Chem* 1993;39:1804–1810. 109
27. Kroll MH, Elin RJ. Interference with clinical laboratory analyses. *Clin Chem* 1994; 40:1996–2005
28. Caraway WT. Chemical and diagnostic specificity of laboratory tests. *Am J Clin Pathol* 1961;37:445–464.
29. Damien et al Interférence de l'hémolyse, de la lipémie et de l'ictère sur le dosage des principaux paramètres biochimiques 2015
30. Frank JJ, Bermes EW, Bickel MJ, Watkins BF. Effect of in vitro hemolysis on chemical values for serum. *Clin Chem* 1978;24:1966–1970.

- 31.** Yu'cel D, Dalva K. Effect of in vitro hemolysis on 25 common biochemical tests. Clin Chem 1992;38:575–577.
- 32.** Inorganic phosphate binding to apoaspartate aminotransferase D. Vergé .J-P. Tenu .M. Arrio-Dupont April 15, 1979
- 33.**D. VERGE?, J-P, TENU and M. ARRIO-DUPONT Laboratoire d'enzymologie Plzysico-Chimique et Moleculaire, Batiment 433, Universitk de Paris-Sud, 91405 Orsay, France
- 34.** Pyridoxal Phosphate as Coenzyme of Transaminase Nutrition Reviews, Volume 4, Issue 8, 1 August 1946, Pages 232–233,
- 35.** a.menarini diagnostics AST Aspartate Aminotransférase IFCC
- 36.**Mehmet Koseoglu, Aysel Hur, Aysenur Atay, Serap Cuhadar\*. Effects of hemolysis interference on routine biochemistry parameters. Biochemia Medica 2011;21(1):79-85.
- 37.** L. BENCHEKROUN, N. RTABI, A. GUEDIRA, D. SOUSSI TANANI, G. ABOUQAL interférence de l'hémolyse sur la détermination des paramètres de biochimie clinique

# Annexes

## ANNEXE A

**Questionnaire d'évaluation la qualité de la phase pré-analytique des examens de laboratoire au niveau des laboratoires biologique de l'hôpital Frantz Fanon Blida -2018-**

**A/ Caractéristiques des participants :**

1. Quel type de formation avez-vous suivi ?

Biologie

Laborantin(e)de santé public

2. Quel est votre ancienneté dans le service ( par ans ) ?

1-5

5-10

10-15

**B/ Réception des échantillons biologiques au laboratoire :**

1. Quels sont les éléments que vous notés dans une feuille de prescription des examens biologiques :

Nom et prénom du patient oui  non

Le type d'échantillon biologique (sang, LCR,...) oui  non

La nature des analyses demandées oui  non

Les renseignements cliniques pertinents relatifs au patient oui  non

Le sexe et la date de naissance du patient : oui  non

Le nom et cachet du service demandeur oui  non

2. Pensez-vous que la phase pré-analytique influe sur la qualité des échantillons sanguins ?

Oui  Non

3. Quelle est la durée de la pose du garrot laissez-vous lors du prélèvement sanguin

<3 min  3 min à 4 min  4min à 5 min

4. Après le remplissage des tubes à anticoagulant, on effectue :

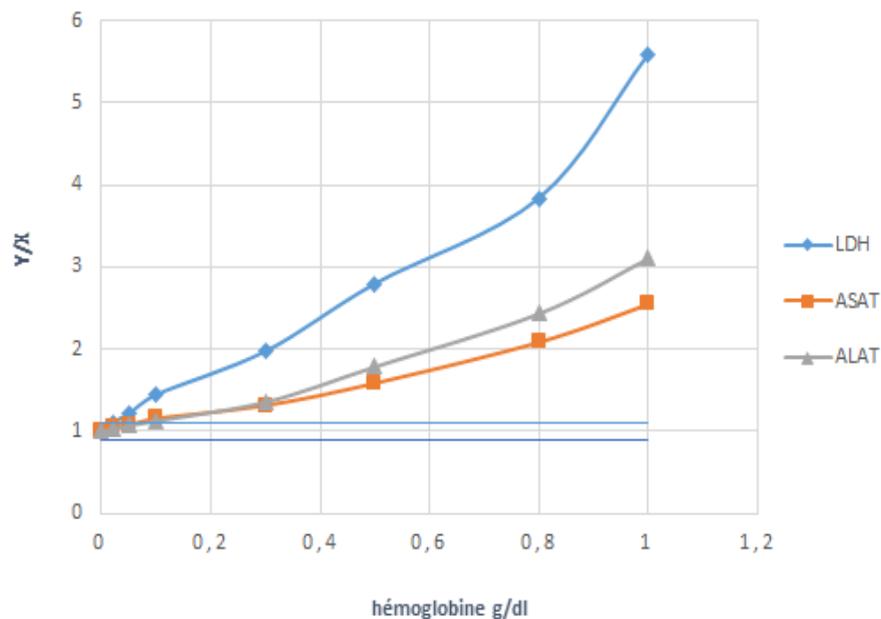
Homogénéisation vigoureuse de 4 -6 fois  Retournement de 6 -8 fois  Retournement de 10 -12 fois

5. Quelle sont les échantillons non conformes qui donnent des résultats erronés ?  
 Hémolysé  Coagulé  Lactescent   
 Ictérique  Non-respect de rapport sang-anti coagulant
6. Constatez-vous souvent des tubes hémolysés ?  
 Oui  non
7. Quelle sont Les facteurs qui peuvent provoquer l'hémolyse in vitro  
 Garrot trop serré  Compétence de préleveur  L'état de patient
8. Quels sont les paramètres de biochimie les plus affectés par l'hémolyse ?  
 Les enzymes hépatiques  ionogramme  autre
9. Pensez-vous que l'hémolyse est la cause de :  
 L'augmentation des paramètres analysés  La diminution des paramètres analysés   
 Aucune influence  Aucune réponse
10. Lorsque vous avez reçu un échantillon hémolysé, avez-vous :  
 Utilisé cette échantillon  Demandez un autre prélèvement  Selon le paramètre

**Merci de votre collaboration**

**Figure 39.** Questionnaire d'évaluation la qualité de la phase pré-analytique des examens de laboratoire au niveau des laboratoires biologique de l'hôpital Frantz Fanon Blida -2018-

## ANNEXE B



**Figure 40** : Représentation graphique des résultats de dosage de la LDH, l'ASAT et l'ALAT en fonction de la concentration en hémoglobine dans l'échantillon.

## ANNEXE C

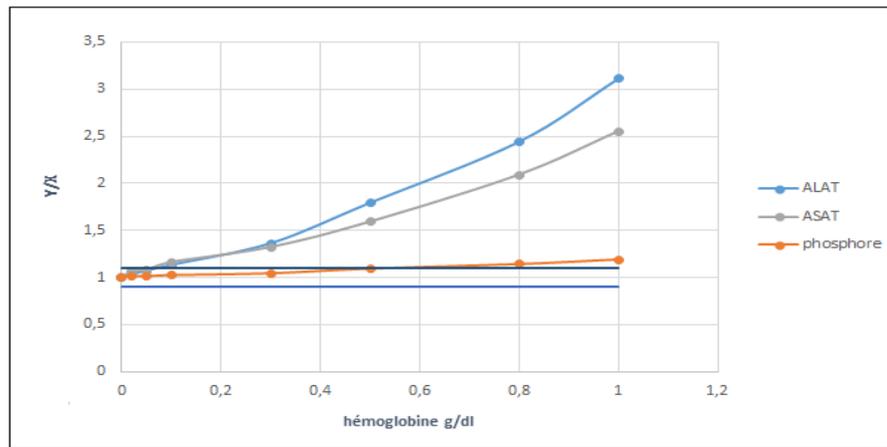
L'IFCC a maintenant recommandé (1980)<sup>1</sup> des procédures standardisées pour les déterminations des activités AST comprenant:

1. Optimisation des concentrations du substrat.
2. Emploi des tampons Tris (au lieu du phosphate dont il été démontré qu'il inhibe la recombinaison de l'apoenzyme avec le phosphate de pyridoxal).
3. Pré-incubation combinée du tampon et du sérum pour permettre les réactions de site avec le NADH.
4. Démarrage substrat ( $\alpha$ -oxoglutarate).
5. Activation optionnelle avec le phosphate pyridoxal. Il s'agit d'une méthode standard optimisée selon les concentrations recommandées par l'IFCC.

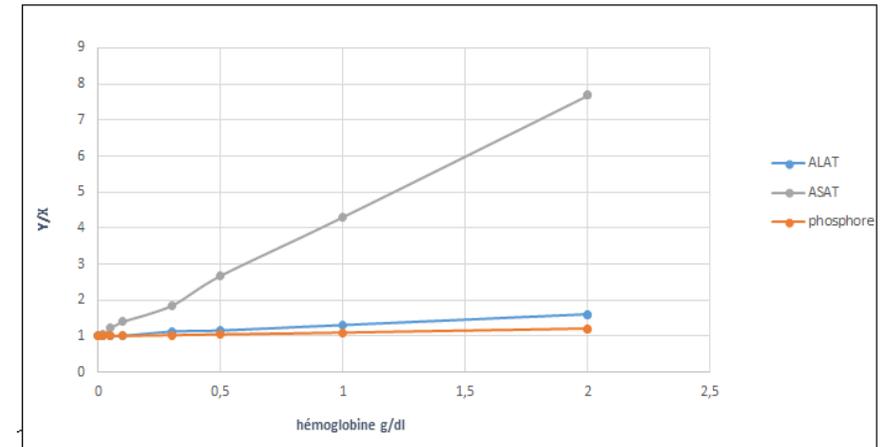
**Figure 41**: les recommandations de l'IFCC pour le dosage des transaminases.



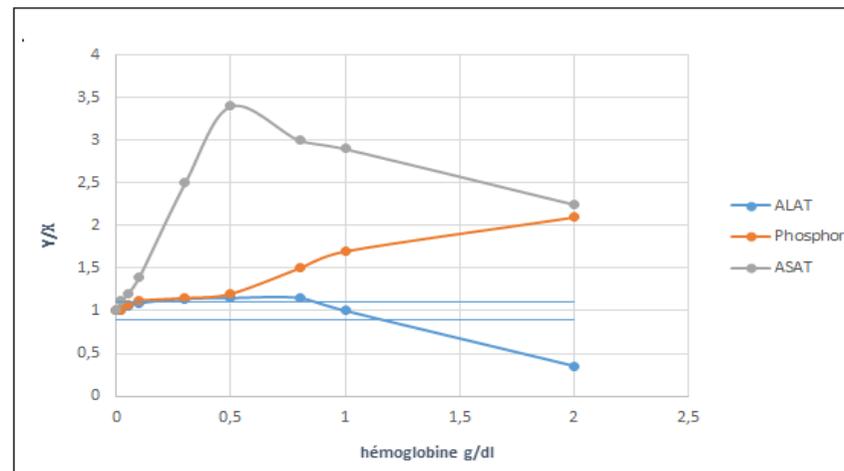
## ANNEXE D



**Figure 42:** Représentation graphique des résultats de dosage des transaminases avec le phosphore (notre étude).



**Figure 43:** Représentation graphique des résultats de dosage des transaminases avec le phosphore (Giuseppe Lippi 2006).



**Figure 44:** Représentation graphique des résultats de dosage des transaminases avec le phosphore (Damien et al 2015).

# Résumé

## Résumé

**Introduction/objectif :** L'hémolyse est la source d'erreur pré-analytique la plus courante dans les laboratoires de biochimie cliniques

L'objectif de cette thèse est d'étudier l'interférence de l'hémolyse sur le dosage de 17 paramètres biochimiques courants, en déterminant le sens de l'interférence et à partir de quelle concentration d'hémoglobine dans le plasma l'impact est significatif.

**Matériel et méthodes :** L'étude a été déterminée expérimentalement pour dix-sept paramètres biochimiques, la méthode des ajouts d'hémolysât a été utilisée pour créer une gamme d'hémoglobine de concentration croissante variant de 0 à 1g/dl. la limite de 10 % de variation a été choisie pour définir une influence de l'hémolyse sur la mesure. le test t de Student apparié, a été utilisé pour déterminer à partir de quelle concentration d'Hb la différence devient-elle significative.

**Résultats/ discussion :** Les paramètres étudiés ont été classés en différents catégories : les paramètres pour lesquels l'hémolyse n'influence pas la mesure : l'urée et le sodium. les paramètres impactés de façon positive: transaminases, LDH ,CPK , cholestérol total, créatinine, magnésium, phosphore, triglycérides, acide urique et le calcium ; et les paramètres impactés de façon négative, GGT le PAL,

**Conclusion :** L'hémolyse affecte la concentration plasmatique de la plupart des paramètres biochimique courants, par conséquence la maîtrise de la phase pré-analytique du prélèvement est nécessaire.

**Mots clés :** hémolyse, interférence, surestimation, sousestimation

## Abstract

**Introduction / Purpose:** Hemolysis is the most common pre-analytical source of error in clinical biochemistry laboratories. The aim of this study was to investigate the effects of hemolysis on seventeen common biochemical parameters by determining the manner in which the effects occur as well the plasmatic hemoglobin concentration at which the effects become significant.

**Material and methods:** The study was determined experimentally on seventeen biochemical parameters, the method of adding hemolysate was used to create a series of increasing hemoglobin concentration ranging from 0 to 1g / dl. A coefficient of variation of 10% was chosen to define the effects of hemolysis on findings. The Student t test was used to determine from which hemoglobin concentration the difference becomes significant.

**Results / Discussion:** The parameters studied were classified into different categories: parameters for which hemolysis does not affect measurement: urea and sodium. parameters impacted positively: transaminases, LDH, CPK, total cholesterol, creatinine, magnesium, phosphorus, triglycerides, uric acid and calcium; and the parameters impacted negatively, GGT the PAL.

**Conclusion:** Hemolysis affects the plasma concentration of most routine biochemical parameters, therefore it is necessary to control of the pre-analytical phase during phlebotomy.

**Key words:** hemolysis, interference, underestimation, overestimation



