



ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT
FACULTE DE MEDECINE
ET DE PHARMACIE
RABAT



Année: 2023

Thèse N°: 25

INTERFERENCES DE L'HEMOLYSE, DE L'ictErE Et DE La LipEmiE sur Les dosages biochimiques

THESE

Présentée et soutenue publiquement le : / /2023

PAR

Madame Fatima-Zohra CHARIFI

Née le 13 Mars 1998 à Sefrou

*Pour l'Obtention du Diplôme de
Docteur en Pharmacie*

Mots Clés : Hémolyse; Ictère; Lipémie; Interférences

Membres du Jury :

Monsieur Ali ABOUZAHIR

Professeur de Médecine Interne

Madame Sanae BOUHSAINE

Professeur de Biochimie et Chimie

Monsieur Abdellah DAMI

Professeur de Biochimie et Chimie

Monsieur Azlarab MASRAR

Professeur d'Hématologie Biologique

Madame Samira EL MACHTANI IDRISSE

Professeur de Biochimie et Chimie

Président

Rapporteur

Juge

Juge

Juge

مُبْتَخَانِكَ لَا عِلْمَ لَنَا إِلَّا مَا عَلَّمْتَنَا
إِنَّكَ أَنْتَ الْعَلِيمُ الْحَكِيمُ هَذِهِ اللَّيْلُ الْعَظِيمَةُ



**UNIVERSITE MOHAMMED V
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
RABAT**

DOYENS HONORAIRES :

**1962 – 1969 : Professeur Abdelmalek FARAJ
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOU
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI
2003 - 2013 : Professeur Najia HAJJAJ – HASSOUNI**

ORGANISATION DÉCANALE :

Doyen

Professeur Mohamed ADNAOUI

Vice-Doyen chargé des Affaires Académiques et étudiantes

Professeur Brahim LEKEHAL

Vice-Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération

Professeur Taoufiq DAKKA

Vice-Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie

Professeur Younes RAHALI

Secrétaire Général : Mr. Mohamed KARRA

SERVICES ADMINISTRATIFS :

Chef du Service des Affaires Administratives

Mr. Abdellah KHALED

Chef du Service des Affaires Étudiantes, Statistiques et Suivi des Lauréats

Mr. Azzeddine BOULAAJOU

Chef du Service de la Recherche, Coopération, Partenariat et des Stages

Mr. Najib MOUNIR

Chef du service des Finances

Mr. Rachid BENNIS

***Enseignant militaire**

1 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS MEDECINS ET PHARMACIENS

PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

Décembre 1984

Pr. MAAOUNI Abdelaziz
Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
Pr. SETTAF Abdellatif

Médecine interne – Clinique Royale
Anesthésie -Réanimation
Pathologie Chirurgicale

Décembre 1989

Pr. ADNAOUI Mohamed

Médecine interne – Doyen de la FMPR

Janvier et Novembre 1990

Pr. KHARBACH Aïcha
Pr. TAZI Saoud Anas

Gynécologie -Obstétrique
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

Pr. AZZOUZI Abderrahim
Pr. BAYAHIA Rabéa
Pr. BELKOUCHI Abdelkader
Pr. BENSOUDA Yahia
Pr. BERRAHO Amina
Pr. BEZAD Rachid

Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chirurgie Générale
Pharmacie galénique
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique Méd. Chef Mat.

Orangers Rabat

Pr. CHERRAH Yahia
Pr. CHOKAIRI Omar
Pr. SOULAYMANI Rachida

Pharmacologie
Histologie Embryologie
Pharmacologie- Dir. du Centre National

PV Rabat

Décembre 1992

Pr. AHALLAT Mohamed
Pr. BENSOUDA Adil
Pr. EL OUAHABI Abdessamad
Pr. FELLAT Rokaya
Pr. JIDDANE Mohamed
Pr. ZOUHDI Mimoun

Chirurgie Générale Doyen FMPT
Anesthésie Réanimation
Neurochirurgie
Cardiologie
Anatomie
Microbiologie

Mars 1994

Pr. BENJAAFAR Noureddine
Pr. BEN RAIS Nozha
Pr. CAOUI Malika
Pr. CHRAIBI Abdelmjid

Radiothérapie
Biophysique
Biophysique
Endocrinologie et Maladies Métaboliques

Doyen FMPA

Pr. EL AMRANI Sabah
Pr. ERROUGANI Abdelkader
Pr. ESSAKALI Malika
Pr. ETTAYEBI Fouad
Pr. IFRINE Lahssan
Pr. RHRAB Brahim
Pr. SENOUCI Karima

Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale– Dir. du CHIS Rabat
Immunologie
Chirurgie Pédiatrique
Chirurgie Générale
Gynécologie –Obstétrique
Dermatologie

Mars 1994

Pr. ABBAR Mohamed*

Urologie Inspecteur du SSM

**Enseignant militaire*

Pr. BENTAHILA Abdelali
Pr. BERRADA Mohamed Saleh
Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae
Pr. LAKHDAR Amina
Pr. MOUANE Nezha

Mars 1995

Pr. ABOUQUAL Redouane
Pr. AMRAOUI Mohamed
Pr. BAIDADA Abdelaziz
Pr. BARGACH Samir
Pr. EL MESNAOUI Abbès
Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila
Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed
Pr. OUZZANI CHAHDI Bahia
Pr. SEFIANI Abdelaziz
Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Décembre 1996

Pr. BELKACEM Rachid
Pr. BOULANOUAR Abdelkrim
Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan
Pr. GAOUZI Ahmed
Pr. OUZEDDOUN Naima
Pr. ZBIR EL Mehdi*

Rabat

Novembre 1997

Pr. ALAMI Mohamed Hassan
Pr. BIROUK Nazha
Pr. FELLAT Nadia
Pr. KADDOURI Noureddine
Pr. KOUTANI Abdellatif
Pr. LAHLOU Mohamed Khalid
Pr. MAHRAOUI CHAFIQ
Pr. TOUFIQ Jallal
Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Novembre 1998

Pr. BENOMAR ALI

Rabat

Pr. BOUGTAB Abdesslam
Pr. ER RIHANI Hassan
Pr. BENKIRANE Majid*

Janvier 2000

Pr. ABID Ahmed*
Pr. AIT OUAMAR Hassan
Pr. BENJELLOUN Dakhama Badr Sououd
Pr. BOURKADI Jamal-Eddine
Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer
Pr. ECHARRAB El Mahjoub

****Enseignant militaire***

Pédiatrie
Traumatologie – Orthopédie
Ophtalmologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie

Réanimation Médicale
Chirurgie Générale
Gynécologie Obstétrique
Gynécologie Obstétrique
Chirurgie Générale
Oto-Rhino-Laryngologie
Urologie
Ophtalmologie
Génétique
Réanimation Médicale

Chirurgie Pédiatrie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Néphrologie
Cardiologie *Dir. HMI Mohammed V*

Gynécologie-Obstétrique
Ne Urologie
Cardiologie
Chirurgie Pédiatrique
Urologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Psychiatrie *Dir. Hôp.Ar-razi Salé*
Gynécologie Obstétrique

Neurologie *Doyen de la FMP Abulcassis*

Chirurgie Générale
Oncologie Médicale
Hématologie

Pneumo-ptisiologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Pneumo-ptisiologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale

Pr. EL FTOUH Mustapha
Pr. EL MOSTARCHID Brahim*
Pr. TACHINANTE Rajae
Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Novembre 2000

Pr. AIDI Saadia
Pr. AJANA Fatima Zohra
Pr. BENAMR Said
Pr. CHERTI Mohammed
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma
Pr. EL HASSANI Amine
Pr. EL KHADER Khalid
Pr. GHARBI Mohamed El Hassan
Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae

Décembre 2001

Pr. BALKHI Hicham*
Pr. BENABDELJLIL Maria
Pr. BENAMAR Loubna
Pr. BENAMOR Jouda
Pr. BENELBARHDADI Imane
Pr. BENNANI Rajae
Pr. BENOACHANE Thami
Pr. BEZZA Ahmed*
Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi
Pr. BOUMDIN El Hassane*
Pr. CHAT Latifa
Pr. EL HIJRI Ahmed
Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid
Pr. EL MADHI Tarik

Pr. EL OUNANI Mohamed
Pr. ETTAIR Said
Pr. GAZZAZ Miloudi*
Pr. HRORA Abdelmalek

Pr. KABIRI EL Hassane*
Pr. LAMRANI Moulay Omar
Pr. LEKEHAL Brahim

Pr. MEDARHRI Jalil
Pr. MOHSINE Raouf
Pr. NOUINI Yassine
Pr. SABBABH Farid
Pr. SEFIANI Yasser
Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia

Décembre 2002

Pr. AMEUR Ahmed*
Pr. AMRI Rachida
Pr. AOURARH Aziz*

Pneumo-physiologie
Neurochirurgie
Anesthésie-Réanimation
Médecine interne

Ne Urologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Générale
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Pédiatrie - [Dir. Hôp. Cheikh Zaid Rabat](#)
Urologie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Pédiatrie

Anesthésie-Réanimation
Ne Urologie
Néphrologie
Pneumo-physiologie
Gastro-Entérologie
Cardiologie
Pédiatrie
Rhumatologie
Anatomie
Radiologie
Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Neuro-chirurgie
Chirurgie-Pédiatrique [Dir. Hôp. Des Enfants Rabat](#)
Chirurgie Générale
Pédiatrie -
Neuro-chirurgie
Chirurgie Générale [Dir. Hôpital Ibn Sina Rabat](#)
Chirurgie Thoracique
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique **V-D.**
Aff Acad. Est.
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Urologie
Chirurgie Générale
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pédiatrie

Urologie
Cardiologie
Gastro-Entérologie [Dir. HMI Moulaya Ismail-Meknès](#)

****Enseignant militaire***

Pr. BAMOU Youssef*
Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*
Pr. BENZEKRI Laila
Pr. BENZZOUBEIR Nadia
Pr. BERNOUSSI Zakiya
Pr. CHOHO Abdelkrim*
Pr. CHKIRATE Bouchra
Pr. EL ALAMI EL Fellous Sidi Zouhair
Pr. FILALI ADIB Abdelhai
Pr. HAJJI Zakia
Pr. KRIOUILE Yamina
Pr. OUJILAL Abdelilah
Pr. RAISS Mohamed
Pr. THIMOU Amal
Pr. ZENTAR Aziz*

Janvier 2004

Pr. ABDELLAH El Hassan
Pr. AMRANI Mariam
Pr. BENBOUZID Mohammed Anas
Pr. BENKIRANE Ahmed*
Pr. BOULAADAS Malik

Pr. BOURAZZA Ahmed*
Pr. CHAGAR Belkacem*
Pr. CHERRADI Nadia
Pr. EL FENNI Jamal*
Pr. EL HANCHI ZAKI
Pr. EL KHORASSANI Mohamed
Pr. HACHI Hafid
Pr. JABOUIRIK Fatima
Pr. KHARMAZ Mohamed
Pr. MOUGHIL Said
Pr. OUBAAZ Abdelbarre*
Pr. TARIB Abdelilah*
Pr. TIJAMI Fouad
Pr. ZARZUR Jamila

Janvier 2005

Pr. ABBASSI Abdellah
Pr. AL KANDRY Sif Eddine*
Pr. ALLALI Fadoua
Pr. AMAZOUZI Abdellah
Pr. BAHIRI Rachid
Pr. BARKAT Amina
Pr. BENYASS Aatif*
Pr. DOUDOUH Abderrahim*
Pr. HESSISSEN Leila
Pr. JIDAL Mohamed*
Pr. LAAROUSSI Mohamed
Pr. LYAGOUBI Mohammed
Pr. SBIHI Souad
Pr. ZERAIDI Najia

****Enseignant militaire***

Biochimie-Chimie
Endocrinologie et Maladies Métaboliques
Dermatologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Pédiatrique
Gynécologie Obstétrique
Ophtalmologie
Pédiatrie
Oto-Rhino-Laryngologie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Chirurgie Générale [Dir. de l' ERPPLM](#)

Ophtalmologie
Anatomie Pathologique
Oto-Rhino-Laryngologie
Gastro-Entérologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale

Ne Urologie
Traumatologie Orthopédie
Anatomie Pathologique
Radiologie
Gynécologie Obstétrique
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Pédiatrie
Traumatologie Orthopédie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Pharmacie Clinique
Chirurgie Générale
Cardiologie

Chirurgie réparatrice et plastique
Chirurgie Générale
Rhumatologie
Ophtalmologie
Rhumatologie [Dir. Hôp. Al Ayachi Salé](#)
Pédiatrie
Cardiologie
Biophysique
Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Cardio-vasculaire
Parasitologie
Histo-Embryologie Cytogénétique
Gynécologie Obstétrique

AVRIL 2006

Pr. ACHEMLAL Lahsen*
Pr. BELMEKKI Abdelkader*
Pr. BENCHEIKH Razika
Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine
Pr. BOULAHYA Abdellatif*

Pr. CHENGUETI ANSARI Anas
Pr. DOGHMI Nawal
Pr. FELLAT Ibtissam
Pr. FAROUDY Mamoun
Pr. HARMOUCHE Hicham
Pr. IDRIS LAHLOU Amine*
Pr. JROUNDI Laïla
Pr. KARMOUNI Tariq
Pr. KILI Amina
Pr. KISRA Hassan
Pr. KISRA Mounir
Pr. LAATIRIS Abdelkader*
Pr. LMIMOUNI Badreddine*
Pr. MANSOURI Hamid*
Pr. OUANASS Abderrazzak
Pr. SAFI Soumaya*
Pr. SOUALHI Mouna
Pr. TELLAL Saida*
Pr. ZAHRAOUI Rachida

Octobre 2007

Pr. ABIDI Khalid
Pr. ACHACHI Leïla
Pr. AMHAJJI Larbi*
Pr. AOUI Sarra
Pr. BAITE Abdelouahed*
Pr. BALOUCH Lhousaine*
Pr. BENZIANE Hamid*
Pr. BOUTIMZINE Nouridine
Pr. CHERKAOUI Naoual*
Pr. EL BEKKALI Youssef*
Pr. EL ABSI Mohamed
Pr. EL MOUSSAOUI Rachid
Pr. EL OMARI Fatima
Pr. GHARIB Noureddine
Pr. HADADI Khalid*
Pr. ICHOU Mohamed*
Pr. ISMAILI Nadia
Pr. KEBDANI Tayeb
Pr. LOUZI Lhoussain*
Pr. MADANI Naoufel
Pr. MARC Karima
Pr. MASRAR Azlarab
Pr. OUZZIF Ez zohra*
Pr. SEFFAR Myriame

****Enseignant militaire***

Rhumatologie
Hématologie
O.R.L
Chirurgie - Pédiatrique
Chirurgie Cardio – Vasculaire. [Dir. Hôp. Ibn Sina Marr.](#)
Gynécologie Obstétrique
Cardiologie
Cardiologie
Anesthésie Réanimation
Médecine interne
Microbiologie
Radiologie
Urologie
Pédiatrie
Psychiatrie
Chirurgie – Pédiatrique
Pharmacie Galénique
Parasitologie
Radiothérapie
Psychiatrie
Endocrinologie
Pneumo – Phtisiologie
Biochimie
Pneumo – Phtisiologie

Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Traumatologie orthopédie
Parasitologie
Anesthésie réanimation
Biochimie-Chimie
Pharmacie Clinique
Ophtalmologie
Pharmacie galénique
Chirurgie cardio-vasculaire
Chirurgie Générale
Anesthésie réanimation
Psychiatrie
Chirurgie plastique et réparatrice
Radiothérapie
Oncologie Médicale
Dermatologie
Radiothérapie
Microbiologie
Réanimation médicale
Pneumo phtisiologie
Hématologie biologique
Biochimie-Chimie
Microbiologie

Pr. SEKHSOKH Yessine*
Pr. SIFAT Hassan*
Pr. TACHFOUTI Samira
Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*
Pr. TANANE Mansour*
Pr. TLIGUI Houssain
Pr. TOUATI Zakia

Mars 2009

Pr. ABOUZAHIR Ali*
Pr. AGADR Aomar*
Pr. AIT ALI Abdelmounaim*
Pr. AKHADDAR Ali*
Pr. ALLALI Nazik
Pr. AMINE Bouchra
Pr. ARKHA Yassir

Rabat

Pr. BELYAMANI Lahcen*
Pr. BJIJOU Younes
Pr. BOUHSAIN Sanae*
Pr. BOUI Mohammed*
Pr. BOUNAIM Ahmed*
Pr. BOUSSOUGA Mostapha*
Pr. CHTATA Hassan Toufik*
Pr. DOGHMI Kamal*
Pr. EL MALKI Hadj Omar
Pr. EL OUENNASS Mostapha*
Pr. ENNIBI Khalid*
Pr. FATHI Khalid
Pr. HASSIKOU Hasna*
Pr. KABBAJ Nawal
Pr. KABIRI Meryem
Pr. KARBOUBI Lamya
Pr. LAMSAOURI Jamal*
Pr. MARMADÉ Lahcen
Pr. MESKINI Toufik
Pr. MSSROURI Rahal
Pr. NASSAR Ittimade
Pr. OUKERRAJ Latifa
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani*

Mars 2010

Pr. Karim FILALI *

Octobre 2010

Pr. ALILOU Mustapha
Pr. AMEZIANE Taoufiq*
Pr. BELAGUID Abdelaziz
Pr. CHADLI Mariama*
Pr. CHEMSI Mohamed*
Pr. DAMI Abdellah*
Pr. DENDANE Mohammed Anouar

****Enseignant militaire***

Microbiologie
Radiothérapie
Ophtalmologie
Chirurgie Générale
Traumatologie-Orthopédie
Parasitologie
Cardiologie

Médecine interne
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Neuro-chirurgie
Radiologie
Rhumatologie
Neuro-chirurgie *Dir. Hôp. Spécialités*

Anesthésie Réanimation
Anatomie
Biochimie-Chimie
Dermatologie
Chirurgie Générale
Traumatologie-Orthopédie
Chirurgie Vasculaire Périphérique
Hématologie clinique
Chirurgie Générale
Microbiologie
Médecine interne
Gynécologie obstétrique
Rhumatologie
Gastro-entérologie
Pédiatrie
Pédiatrie
Chimie Thérapeutique
Chirurgie Cardio-vasculaire
Pédiatrie
Chirurgie Générale
Radiologie
Cardiologie
Pneumo-Phtisiologie

Anesthésie réanimation *Directeur de l'Ecole Royale du Service de Santé Militaire*

Anesthésie réanimation
Médecine interne
Physiologie
Microbiologie
Médecine Aéronautique
Biochimie- Chimie
Chirurgie Pédiatrique

Pr. EL HAFIDI Naima
Pr. EL KHARRAS Abdenmasser*
Pr. EL MAZOUZ Samir
Pr. EL SAYEGH Hachem
Pr. ERRABIH Ikram
Pr. LAMALMI Najat
Pr. MOSADIK Ahlam
Pr. MOUJAHID Mountassir*
Pr. ZOUAIDIA Fouad

Decembre 2010

Pr. ZNATI Kaoutar

Mai 2012

Pr. AMRANI Abdelouahed
Pr. ABOUELALAA Khalil*
Pr. BENCHEBBA Driss*
Pr. DRISSI Mohamed*
Pr. EL ALAOUI MHAMDI Mouna
Pr. EL OUAZZANI Hanane*
Pr. ER-RAJI Mounir Chirurgie
Pr. JAHID Ahmed

Février 2013

Pr. AHID Samir
Pr. AIT EL CADI Mina
Pr. AMRANI HANCI Laila
Pr. AMOR Mourad
Pr. AWAB Almahdi
Pr. BELAYACHI Jihane
Pr. BELKHADIR Zakaria Houssain
Pr. BENCHEKROUN Laila
Pr. BENKIRANE Souad
Pr. BENSNGHIR Mustapha*
Pr. BENYAHIA Mohammed*
Pr. BOUATIA Mustapha
Pr. BOUABID Ahmed Salim*
Pr. BOUTARBOUCH Mahjouba
Pr. CHAIB Ali*
Pr. DENDANE Tarek
Pr. DINI Nouzha*
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Mohamed Ali
Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Najwa
Pr. ELFATEMI NIZARE
Pr. EL GUERROUJ Hasnae
Pr. EL HARTI Jaouad
Pr. EL JAOUDI Rachid*
Pr. EL KABABRI Maria
Pr. EL KHANNOUSSI Basma
Pr. EL KHLOUFI Samir
Pr. EL KORAICHI Alae
Pr. EN-NOUALI Hassane*
Pr. ERRGUIG Laila

****Enseignant militaire***

Pédiatrie
Radiologie
Chirurgie Plastique et Réparatrice
Urologie
Gastro-Entérologie
Anatomie Pathologique
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Anatomie Pathologique

Anatomie Pathologique

Chirurgie Pédiatrique
Anesthésie Réanimation
Traumatologie-Orthopédie
Anesthésie Réanimation
Chirurgie Générale
Pneumophtisiologie
Pédiatrique
Anatomie Pathologique

Pharmacologie *Doyen FP de l'UM6SS*
Toxicologie
Gastro-Entérologie
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation
Réanimation Médicale
Anesthésie-Réanimation
Biochimie-Chimie
Hématologie
Anesthésie Réanimation
Néphrologie
Chimie Analytique et Bromatologie
Traumatologie orthopédie
Anatomie
Cardiologie
Réanimation Médicale
Pédiatrie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Neuro-chirurgie
Médecine Nucléaire
Chimie Thérapeutique
Toxicologie
Pédiatrie
Anatomie Pathologique
Anatomie
Anesthésie Réanimation
Radiologie
Physiologie

Pr. FIKRI Meryem
Pr. GHFIR Imade
Pr. IMANE Zineb
Pr. IRAQI Hind
Pr. KABBAJ Hakima
Pr. KADIRI Mohamed*
Pr. LATIB Rachida
Pr. MAAMAR Mouna Fatima Zahra
Pr. MEDDAH Bouchra
Pr. MELHAOUI Adyl
Pr. MRABTI Hind
Pr. NEJJARI Rachid
Pr. OUBEJJA Houda
Pr. OUKABLI Mohamed*
Pr. RAHALI Younes

Pharmacie

Pr. RATBI Ilham
Pr. RAHMANI Mounia
Pr. REDA Karim*
Pr. REGRAGUI Wafa
Pr. RKAIN Hanan
Pr. ROSTOM Samira
Pr. ROUAS Lamiaa
Pr. ROUBAA Fedoua*
Pr. SALIHOUN Mouna
Pr. SAYAH Rochde
Pr. SEDDIK Hassan*
Pr. ZERHOUNI Hicham
Pr. ZINE Ali*

AVRIL 2013

Pr. EL KHATIB MOHAMED KARIM*

MAI 2013

Pr. BOUSLIMAN Yassir*

MARS 2014

Pr. ACHIR Abdellah
Pr. BENCHAKROUN Mohammed*
Pr. BOUCHIKH Mohammed
Pr. EL KABBAJ Driss*
Pr. FILALI Karim*
Pr. EL MACHTANI IDRISSE Samira*
Pr. HARDIZI Houyam
Pr. HASSANI Amale*
Pr. HERRAK Laila
Pr. JEAIDI Anass*
Pr. KOUACH Jaouad*
Pr. MAKRAM Sanaa*
Pr. RHISSASSI Mohamed Jaafar
Pr. SEKKACH Youssef*
Pr. TAZI MOUKHA Zakia

****Enseignant militaire***

Radiologie
Médecine Nucléaire
Pédiatrie
Endocrinologie et maladies métaboliques
Microbiologie
Psychiatrie
Radiologie
Médecine interne
Pharmacologie ***Directrice du Méd. Phar.***
Neuro-chirurgie
Oncologie Médicale
Pharmacognosie
Chirurgie Pédiatrique
Anatomie Pathologique
Pharmacie Galénique ***Vice-Doyen à la***

Génétique
Ne Urologie
Ophtalmologie
Ne Urologie
Physiologie
Rhumatologie
Anatomie Pathologique
Gastro-Entérologie
Gastro-Entérologie
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Gastro-Entérologie
Chirurgie Pédiatrique
Traumatologie Orthopédie

Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale

Toxicologie

Chirurgie Thoracique
Traumatologie- Orthopédie
Chirurgie Thoracique
Néphrologie
Anesthésie-Réanimation ***Dir. ERSSM***
Biochimie-Chimie
Histologie- Embryologie-Cytogénétique
Pédiatrie
Pneumologie
Hématologie Biologique
Génycologie-Obstétrique
Pharmacologie
CCV
Médecine interne
Généologie-Obstétrique

DECEMBRE 2014

Pr. ABILKACEM Rachid*
Pr. AIT BOUGHIMA Fadila
Pr. BEKKALI Hicham*
Pr. BENAZZOU Salma
Pr. BOUABDELLAH Mounya
Pr. BOUCHRIK Mourad*
Pr. DERRAJI Soufiane*
Pr. EL AYOUBI EL IDRISSE Ali
Pr. EL GHADBANE Abdedaim Hatim*
Pr. EL MARJANY Mohammed*
Pr. FEJJAL Nawfal
Pr. JAHIDI Mohamed*
Pr. LAKHAL Zouhair*
Pr. OUDGHIRI NEZHA
Pr. RAMI Mohamed
Pr. SABIR Maria
Pr. SBAI IDRISSE Karim*
Hyg.

Pédiatrie
Médecine Légale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Maxillo-Faciale
Biochimie-Chimie
Parasitologie
Pharmacie Clinique
Anatomie
Anesthésie-Réanimation
Radiothérapie
Chirurgie réparatrice et plastique
O.R.L
Cardiologie
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Pédiatrique
Psychiatrie
Médecine préventive, santé publique et

AOÛT 2015

Pr. MEZIANE Meryem
Pr. TAHIRI Latifa

Dermatologie
Rhumatologie

JANVIER 2016

Pr. BENKABBOU Amine
Pr. EL ASRI Fouad*
Pr. ERRAMI Nouredine*

Chirurgie Générale
Ophtalmologie
O.R.L

JUIN 2017

Pr. ABI Rachid*
Pr. ASFALOU Ilyasse*
Pr. BOUAITI El Arbi*
Hyg.
Pr. BOUTAYEB Saber
Pr. EL GHISSASSI Ibrahim
Pr. HAFIDI Jawad
Pr. MAJBAR Mohammed Anas
Pr. OURAINI Saloua*
Pr. RAZINE Rachid
Hyg.
Pr. SOUADKA Amine
Pr. ZRARA Abdelhamid*

Microbiologie
Cardiologie
Médecine préventive, santé publique et
Oncologie Médicale
Oncologie Médicale
Anatomie
Chirurgie Générale
O.R.L
Médecine préventive, santé publique et
Chirurgie Générale
Immunologie

PROFESSEURS AGREGES :

JANVIER 2005

Pr. HAJJI Leila

Cardiologie (*mise en disponibilité*)

MAI 2018

Pr. AMMOURI Wafa
Pr. BENTALHA Aziza
Pr. EL AHMADI Brahim

Médecine interne
Anesthésie-Réanimation
Anesthésie-Réanimation

****Enseignant militaire***

Pr. EL HARRECH Youness*
Pr. EL KACEMI Hanan
Pr. EL MAJJAOUI Sanaa
Pr. FATIHI Jamal*
Pr. GHANNAM Abdel-Ilah
Pr. JROUNDI Imane
Hyg.
Pr. MOATASSIM BILLAH Nabil
Pr. TADILI Sidi Jawad
Pr. TANZ Rachid*

NOVEMBRE 2018

Pr. AMELLAL Mina
Pr. SOULY Karim
Pr. TAHRI Rajae

NOVEMBRE 2019

Pr. AATIF Taoufiq*
Pr. ACHBOUK Abdelhafid*
Pr. ANDALOUSSI SAGHIR Khalid
Pr. BABA HABIB Moulay Abdellah*
Pr. BASSIR Rida Allah
Pr. BOUATTAR Tarik
Pr. BOUFETTAL Monsef
Pr. BOUCHENTOUF Sidi Mohammed*
Pr. BOUZELMAT Hicham*
Pr. BOUKHRIS Jalal*
Pr. CHAFRY Bouchaib*
Pr. CHAHDI Hafsa*
Pr. CHERIF EL ASRI ABAD*
Pr. DAMIRI Amal*
Pr. DOGHMI Nawfal*
Pr. ELALAOUI Sidi-Yassir
Pr. EL ANNAZ Hicham*
Pr. EL HASSANI Moulay El Mehdi*
Pr. EL HJOUJI Abderrahman*
Pr. EL KAOUI Hakim*
Pr. EL WALI Abderrahman*
Pr. EN-NAFAA Issam*
Pr. HAMAMA Jalal*
Pr. HEMMAOUI Bouchaib*
Pr. HJIRA Naouafal*
Pr. JIRA Mohamed*
Pr. JNIENE Asmaa
Pr. LARAQUI Hicham*
Pr. MAHFOUD Tarik*
Pr. MEZIANE Mohammed*
Pr. MOUTAKI ALLAH Younes*
Pr. MOUZARI Yassine*
Pr. NAOUI Hafida*
Pr. OBTEL MAJDOULINE
Hyg.
Pr. OURRAI ABDELHAKIM*

Urologie
Radiothérapie
Radiothérapie
Médecine interne
Anesthésie-Réanimation
Médecine préventive, santé publique et

Radiologie
Anesthésie-Réanimation
Oncologie Médicale

Anatomie
Microbiologie
Histologie-Embryologie--Cytogénétique

Néphrologie
Chirurgie réparatrice et plastique
Radiothérapie
Gynécologie-Obstétrique
Anatomie
Néphrologie
Anatomie
Chirurgie-Générale
Cardiologie
Traumatologie-Orthopédie
Traumatologie-Orthopédie
Anatomie pathologique
Neuro-chirurgie
Anatomie Pathologique
Anesthésie-Réanimation
Pharmacie-Galénique
Virologie
Gynécologie-Obstétrique
Chirurgie Générale
Chirurgie Générale
Anesthésie-Réanimation
Radiologie
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
O.R.L
Dermatologie
Médecine interne
Physiologie
Chirurgie-Générale
Oncologie Médicale
Anesthésie-Réanimation
Chirurgie Cardio-Vasculaire
Ophtalmologie
Parasitologie-Mycologie
Médecine préventive, santé publique et
Pédiatrie

****Enseignant militaire***

Pr. SAOUAB RACHIDA*
Pr. SBITTI YASSIR*
Pr. ZADDOUG OMAR*
Pr. ZIDOUH SAAD*

Radiologie
Oncologie Médicale
Traumatologie-Orthopédie
Anesthésie-Réanimation

SEPTEMBRE 2021

Pr. ABABOU Karim*
Pr. ALAOUI SLIMANI Khaoula*
Pr. ATOUF OUAFI
Pr. BAKALI Youness
Pr. BAMOUS Mehdi*
Pr. BELBACHIR Siham
Pr. BELKOUCH Ahmed*
Catastrophes
Pr. BENNIS Azzelarab*
Pr. CHAFAI ELALAOUI Siham
Pr. DOUMIRI Mouhssine
Pr. EDDERAI Meryem*
Pr. EL KTAIBI Abderrahim*
Pr. EL MAAROUFI Hicham*
Pr. EL OMRI Noual*
Pr. ELQATNI Mohamed*
Pr. FAHRY Aicha*
Pr. IBRAHIM RAGAB MOUNTASSER Dina*
Pr. IKEN Maryem
Pr. JAAFARI Abdelhamid*
Pr. KHALFI Lahcen*
Faciale
Pr. KHEYI Jamal*
Pr. KHIBRI Hajar
Pr. LAAMRANI Fatima Zahrae
Pr. LABOUDI Fouad
Pr. LAHKIM Mohamed*
Pr. MEKAOUI Nour
Pr. MOJEMMI Brahim
Pr. OUDRHIRI Mohammed Yassaad
Pr. SATTE AMAL*
Pr. SOUHI Hicham*
Pr. TADLAOUI Yasmina*
Pr. TAGAJDID Mohamed Rida*
Pr. ZAHID Hafid*
Pr. ZAJJARI Yassir*
Pr. ZAKARYA Imane*

Chirurgie réparatrice et plastique
Oncologie Médicale
Immunologie
Chirurgie Générale
CCV
Psychiatrie
Médecine des Urgences et des
Traumatologie-Orthopédie
Génétique
Anesthésie-Réanimation
Radiologie
Anatomie Pathologique
Hématologie Clinique
Médecine interne
Médecine interne
Pharmacie Galénique
Néphrologie
Parasitologie
Anesthésie-Réanimation
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-
Cardiologie
Médecine interne
Radiologie
Psychiatrie
Radiologie
Pédiatrie
Chimie Analytique
Neurochirurgie
Neurologie
Pneumo-phtisiologie
Pharmacie Clinique
Virologie
Hématologie
Néphrologie
Pharmacognosie

****Enseignant militaire***

2 - ENSEIGNANTS-CHERCHEURS SCIENTIFIQUES

PROFESSEURS DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR :

Pr. ABOUDRAR Saadia
Pr. ALAMI OUHABI Naima
Pr. ALAOUI KATIM
Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma
Pr. ANSAR M'hammed
Chimique
Pr. BARKIYOU Malika
Pr. BOUHOUCHE Ahmed
Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz
Pr. DAKKA Taoufiq
Rech. et de la Coop.
Pr. FAOUZI Moulay El Abbes
Pr. IBRAHIMI Azeddine
Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med
Pr. RIDHA Ahlam
Pr. TOUATI Driss
Pr. ZAHIDI Ahmed

Physiologie
Biochimie-Chimie
Pharmacologie
Histologie-Embryologie
Chimie Organique et Pharmacie

Histologie-Embryologie
Génétique Humaine
Applications Pharmaceutiques
Physiologie *Vice-Doyen chargé de la*

Pharmacologie
Biologie moléculaire/Biotechnologie
Chimie Organique
Chimie
Pharmacognosie
Pharmacologie

PROFESSEURS HABILITES :

Pr. AANNIZ Tarik
Pr. BENZEID Hanane
Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia
Pr. CHERGUI Abdelhak
végétales
Pr. DOUKKALI Anass
Pr. EL BAKKALI Mustapha
Pr. EL JASTIMI Jamila
Pr. KHANFRI Jamal Eddine
Pr. LAZRAK Fatima
Pr. LYAHYAI Jaber
Pr. OUADGHIRI Mouna
Pr. RAMLI Youssef
Pr. SERRAGUI Samira
Pr. TAZI Ahnini
Pr. YAGOUBI Maamar

Microbiologie et Biologie moléculaire
Chimie
Biochimie-Chimie
Botanique, Biologie et physiologie

Chimie Analytique
Physiologie
Chimie
Histologie-Embryologie
Chimie
Génétique
Microbiologie et Biologie
Chimie Organique Pharmaco-Chimie
Pharmacologie
Génétique
Eau, Environnement

Mise à jour le 21/02/2022

KHALED Abdellah

Chef du Service des Affaires Administratives

FMPR

**Enseignant militaire*





*Mes remerciements sont avant tout adressés
à Allah le tout puissant, le très miséricordieux.*

*Merci mon dieu de m'avoir guidé, aidé
et permis la réussite de ce modeste travail.*





A ma très chère mère Rachida :

Ma maman chérie, ma source de soutien, de tendresse, quoi que je dise ou que je fasse, je n'arriverai jamais à te remercier comme il se doit. C'est grâce à ta bienveillance, ta présence à mes côtés et tes encouragements que j'ai pu réussir ce parcours.

Merci pour l'amour que tu m'offres et merci de m'avoir appris le sens de responsabilité. J'espère que j'ai pu répondre aux espoirs que tu as fondé en moi. Que dieu le tout puissant te préserve de tout mal et te garde en bonne santé.





A mon cher père Jamal :

*Ma force, mon premier amour, mon protecteur : mon papa,
le parfait exemple de la personne la plus respectueuse et honnête.*

Je te suis reconnaissante pour ta présence, ta gentillesse et ta générosité.

Je prie le bon dieu de te préserver et de t'accorder longue vie et santé.

A mon cher frère Yahya :

*Je ne saurais exprimer le fond de mes sentiments envers toi mon grand frère,
mon pilier et ma reconnaissance envers les bons souvenirs partagés ensemble
que je ne cesserai de chérir. Ta générosité et ton soutien seraient toujours pour
moi une source d'inspiration et de courage. Je suis tellement fière du père et de
l'homme que tu es devenu aujourd'hui. Je prie dieu le tout miséricordieux de
t'accorder toi et ta petite famille joie, santé et réussite*





A ma très chère grand-mère maternelle Halima

*Merci pour l'amour et la sagesse que tu as transmis
à toute la famille. Que dieu te comble de santé et de bonheur*

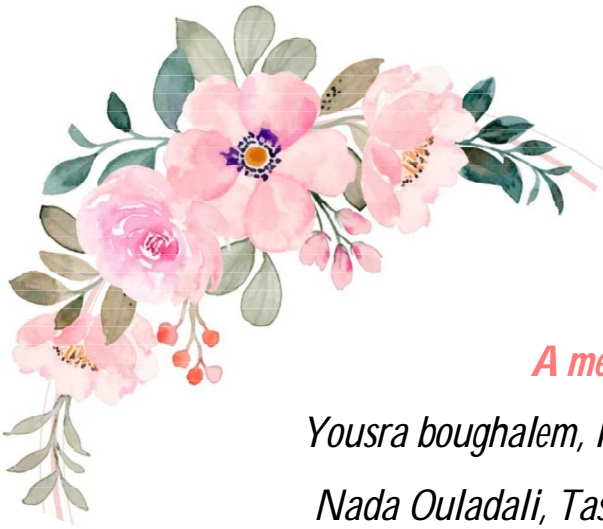
A la mémoire de ma grand-mère paternelle Zineb et de mes grands-pères

Qu'Allah le tout puissant ait votre âme et vous accorde sa miséricorde

A ma grande famille

*Je vous dédie ce travail en guise de témoignage
de ma grande considération et de mon affection.*





A mes meilleures amies

Yusra boughalem, Rhizlane Siba, Mouna Siraj Sani,

Nada Ouladali, Tasnim Benlamkaddem, Zineb Siba

Je ne pourrais vous décrire à travers ces lignes tous mes sentiments d'amour, tout ce que je peux vous dire est merci d'avoir été présentes dans la joie comme dans la peine. Merci pour votre confiance, vos conseils précieux et votre soutien moral qui m'ont aidé dans les moments difficiles. Je vous souhaite bonheur et réussite dans vos vies. Je prie dieu de préserver notre belle amitié

A mes chères cousines et spécialement Hiba,

ma petite sœur. Saches que tu pourras toujours compter sur moi et vraiment merci d'avoir contribué à la réalisation de ce mémoire.





Remerciements



*A notre Maitre et Président de thèse
monsieur ABOUZAHIR ALI
professeur de Médecine Interne :*

*Permettez-moi de vous remercier de m'avoir fait
l'honneur en acceptant de présider ce jury.
Veuillez accepter cher professeur à travers ce travail
la manifestation et le témoignage de mon immense considération
et de mon grand respect*





*A notre Maitre et Rapporteur de thèse
madame le professeur **BOUHSAIN SANAE**
professeur de **Biochimie et Chimie** :*

*Je souhaite exprimer ma profonde gratitude pour avoir dirigé ce travail.
Je vous remercie pour la spontanéité et la gentillesse avec lesquelles vous m'avez
guidé le long de ce parcours et également pour votre disponibilité et vos conseils
qui m'ont permis d'améliorer ce travail. J'espère que ce mémoire est à la hauteur
de vos espérances que j'ai été digne de la confiance que vous m'avez accordée.
Veuillez accepter, cher maitre, mon respect et ma grande reconnaissance*





*A notre Maitre et juge de thèse
monsieur ABDELLAH DAMI
professeur de Biochimie et Chimie :*

*Je vous remercie de m'avoir accordé le privilège de juger ma thèse.
Permettez-moi d'exprimer mon respect et ma gratitude*





*A notre Maitre et juge de thèse
monsieur AZLARAB MASRAR
professeur d'Hématologie Biologique :*

*Je tiens à vous remercier de cet honneur que vous me faites en jugeant mon
travail. Je vous exprime ma grande gratitude et reconnaissance*

A notre maitre et juge de thèse





*A notre Maitre et juge de thèse
madame SAMIRA EL MACHTANI IDRISSE
professeur de Biochimie et Chimie :*

Je vous suis très reconnaissante d'avoir accepté d'être parmi le jury.

*J'espère que ce travail saura exprimer mon respect
et mes remerciements les plus sincères.*





*Liste
des abréviations*

LISTE DES ABRÉVIATIONS :

ACL	: Analytical change limit
Ac. Urique	: Acide urique
AIHA	: Anémie hémolytique auto-immune
ALAT	: Alanine Aminotransphérase
ALB	: Albumine
ALP	: Phosphatase alcaline
AMP	: Adénosine monophosphate
ASAT	: Aspartate aminotransphérase
AUR	: acide urique
BNP	: Facteur natriurétique de type B
CA	: Calcium
CIQ	: Contrôles de qualité internes
CK	:Creatinkinase
CK-MB	: Isoenzyme MB de la créatine kinase
CLIA	: Clinical laboratory improvement amendments
CLSI	: Clinical and Laboratory Standards Institute
CMV	: Cytomegalovirus
CQ	: Contrôle qualité
CRE	: Créatinine
CRP	: Protéine C-réactive
CT	: Cholestérol total
CVa	: Variation analytique
CVi	: Variation intra-individuelle
CVg	: Variation biologique inter individuelle
CVw	: Variation biologique intra individuelle
DIC	: Coagulation intravasculaire disséminée
DPD	: Dichlorophényldiazonium tétrafluoroborate
EBV	: Epstein barr virus
ECBU	: Exam cytobactériologique des urines

EDTA	: Éthylènediamine-tétraacétique
EEQ	: Évaluation externe de la qualité
EFLM	: Fédération européenne de chimie clinique et de médecine de laboratoire
EQALM	: Organisation européenne des prestataires externes d'assurance qualité en médecine de laboratoire
G6PD	: Glucose-6-phosphate déshydrogénase
GGT	: Gamma glutamyl transférase
GLU	: Glycémie
GR	: Globules rouges
Hb	: Hémoglobine
HbCO	: Carboxyhemoglobin
hCG	: Gonadotrophine chronique humaine
HDL	: lipoprotéines de haute densité
HHb	: Deoxyhemoglobin
HIL	: Hémolyse - ictère- lipémie
I	: Interférence
I-H	: Indice d'hémolyse
I-I	: Indice ictérique
I-L	: Indice lipémique
ISE	: Électrode sélective d'ions chlorure
ISO	: International Organization for Standardization
K	: Coefficient kappa pondéré
K	: Potassium
LDH	: Lipoprotéines de basse densité
LI	: Limite d'interférence
LIP	: Lipasémie
LTO	: Lab Test Online
Mb	: Page 82 tableau
NA	: Sodium
NAD(P)	: Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate

NFS : Numération formule sanguine
NT-proBNP : N-terminal pro hormone BNP
PAL : Phosphatase alcaline
PNH : Hémoglobinurie paroxystique nocturne
PT : Protéines totales
RCV : Reference change value
SD : Fonction de calcul de l'écart type selon Westgard
SFBC : Société française de biologie clinique
SH GTA : Guide technique d'accréditation
TCL : Total change limit
TDM : Tomodensitométrie
TEa : Erreur totale acceptable
TG : Triglycéride
TLC : Total change limit
TnI : Troponine I
TnT : Troponine T
TnT hs : Troponin T high sensitivity
TTP : Purpura thrombocytopénique thrombotique
UR : Urée
V : Variation due à l'hémolyse
VLDL : Lipoprotéines de très basse densité
VLTA : Variation limite totale acceptable
WG-PRE : Working group for preanalytical phase

A decorative circular frame composed of two thin, parallel pink lines. The frame is adorned with several pink flowers of various sizes and styles, including some with purple centers and others with yellow centers. Green leaves and small red berries are interspersed among the flowers, primarily concentrated on the left and right sides of the circle.

*Liste
des illustrations*

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : processus d'un prélèvement	5
Figure 2 : circuit du prélèvement	6
Figure 3 : circuit du prélèvement et interférences	14
Figure 4 : Spectre d'absorbance d'un échantillon de sang. (1) Pic d'absorbance de la HbCO à 530 nm. (2) Pic d'absorbance de l'HHb à 560 nm.	24
Figure 5 : métabolisme de la bilirubine	28
Figure 6 : Étalement de la fraction albumine pour une bilirubinémie de 218,2 µmol/L. (51)	31
Figure 7 : Corrélation entre la concentration en Intralipid [®] et la concentration en triglycérides.....	35
Figure 8 Aspect selon l'intensité de l'hémolyse	41
Figure 9 : Aspect selon l'intensité de la lipémie	42
Figure 10 : Aspect selon l'intensité de l'ictère.....	43
Figure 11 : Spectres visuels de l'hémoglobine, de la bilirubine et de la lipémie(76–78)	44
Figure 12 : procédure de gestion du contrôle interne de la qualité CIQ pour les indices HIL (94)	57
Figure 13 : Représentation graphique des recommandations de l'EFLM concernant le traitement des interférences liées à l'hémolyse	70
Figure 14 : résumé des recommandations pratiques pour la gestion des spécimens hémolysés pour les tests de chimie clinique.	74
Figure 15 : application de la stratégie suggérée pour gérer les résultats de potassium obtenus dans des échantillons hémolysés.	75
Figure 16 : Réponses aux questions relatives au suivi et à la poursuite de l'utilisation de HIL.....	81
Figure 17 : Réponses aux questions relatives à la définition des échantillons comme hémolytiques. CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. F Hb - hémoglobine libre.....	83
Figure 18 : Réponses relatives aux stratégies de délipidation.....	85

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1: : Recommandations disponibles sur plusieurs sites Internet nationaux de LTO (Lab Test Online) concernant les exigences de jeûne pour certaines analyses de sang sérique/plasma.....	11
Tableau 2: Liste des différentes causes d'hémolyse survenant in vivo	22
Tableau 3: les différents types d'ictères.	29
Tableau 4: Informations des fabricants sur les indices hémolytique, ictérique et lipémique. 48	
Tableau 5 : solutions surchargées avec un hémolysat.....	60
Tableau 6: solutions surchargées avec de la bilirubine	61
Tableau 7: solutions surchargées avec de l'Intralipid ^R	61
Tableau 8: Interférence de l'hémolyse sur le dosage des principaux paramètres.....	88
Tableau 9: Interférences de l'hémolyse sur la mesure des analytes en fonction des techniques utilisées.	92
Tableau 10: Interférences de l'hémolyse sur la mesure des analytes en fonction des techniques utilisées	95
Tableau 11: Paramètres pour lesquels l'influence de l'ictère a été étudiée sur l'automate Cobas 6000 Roche.....	97



Sommaire

SOMMAIRE

Introduction.....	1
I. PHASE PRÉANALYTIQUE ET INTERFÉRENCES	5
A- Phase préanalytique	6
1. La prescription médicale :	8
2. La préparation du patient : l'état de jeune	9
3. Mécanismes d'interférence.....	12
B- Les interférences.....	15
II. L'HÉMOLYSE, L'ICTÈRE ET LA LIPÉMIE :.....	18
A- L'hémolyse :.....	18
1. Définition :.....	18
2. Les causes de l'hémolyse :	18
3. Mécanismes d'interférence de l'hémolyse :	23
B- Ictère	27
1. Définition :.....	27
2. Rappel sur la bilirubine :	27
3. Causes de l'ictère :	28
4. Mécanismes d'interférences :	30
C- Lipémie	32
1. Définition :.....	32
2. Causes de la lipémie :	33
3. Mécanismes d'interférences de la lipémie :.....	34
III. MÉTHODES DE DÉTECTION DE L'HÉMOLYSE, DE L'ICTÈRE ET DE LA LIPÉMIE DANS LES ÉCHANTILLONS SÉRIQUES ET PLASMATIQUES	41
A- Détection visuelle	41
B- Méthode spectrophotométrique de détection des indices d'Hémolyse, d'ictère et de lipémie HIL	44
1- Principe	44

2. Expression des indices HIL par les fournisseurs	46
3. Contrôle interne de qualité des indices HIL.....	49
IV. VÉRIFICATION DES INTERFÉRENCES LIÉES À L'HÉMOLYSE, À L'ICTÈRE ET À LA LIPÉMIE	59
A- Recommandations CLSI	59
B- Protocole Valtec (100) :	60
C- Protocole EFLM	62
a. Préparation de l'hémolysat et surcharge en hémoglobine :	63
b. Surcharge en bilirubine :.....	64
c. Surcharge en intralipide.....	65
D- Choix du seuil ou limite d'interférence.....	67
E- Gestion des échantillons soumis aux interférences HIL	71
1. Gestion des échantillons hémolysés : recommandations du groupe de travail de la Fédération Européenne de Chimie Clinique et de Médecine de Laboratoire (EFLM, WG-PRE) sur la phase préanalytique	71
2. Gestion des échantillons lipémiques :	76
F- Enquête sur les pratiques de gestion des interférences HIL par les laboratoires européens.....	78
V. PRINCIPAUX PARAMÈTRES BIOCHIMIQUES SOUMIS AUX INTERFÉRENCES HIL.....	87
G- Principaux paramètres soumis à l'interférence de l'hémolyse	88
H- Principaux paramètres soumis à l'influence de l'ictère et lipémie.....	94
Conclusion	100
Résumés	102
Bibliographie.....	106



La Biochimie est l'une des disciplines de Biologie médicale qui a bénéficié le plus des progrès en termes d'automatisation, de consolidation des unités analytiques, d'utilisation de logiciels informatiques ainsi que d'une culture en management de qualité. Il en résulte une augmentation spectaculaire de la cadence des analyses réalisées ainsi qu'une grande amélioration de la précision, de la justesse et de la reproductibilité des dosages et donc de la fiabilité des résultats rendus.

L'ensemble de ces progrès analytiques n'a cependant pas permis de s'affranchir des erreurs préanalytiques à l'origine de 65 % des erreurs au laboratoire. Dans le cadre de l'accréditation des laboratoires, la norme NM NF EN ISO 15189 stipule que l'influence des interférences sur la qualité des résultats doit être documentée. Les substances interférentes les plus étudiées sont : l'hémolyse, l'ictère et la lipémie. Si cette information figure généralement sur les fiches techniques, elle est souvent incomplète et parfois d'interprétation difficile. D'autre part, les méthodes de détermination de l'interférence varient et la formulation des résultats n'est pas homogène. Par ailleurs, l'appréciation du degré de l'hémolyse, d'ictère et de lipémie d'un échantillon, longtemps visuelle et opérateur-dépendante, bénéficie actuellement d'une possibilité de quantification adaptée sur les analyseurs de biochimie les plus récents. Cependant, en l'absence de standardisation, subsiste une hétérogénéité des pratiques à la fois au niveau des moyens de détection de l'interférence, de son impact sur le résultat, de son expression par le biologiste et aussi de sa compréhension par le clinicien. La connaissance de la fiabilité des résultats rendus sur des échantillons hémolysés, lipémiques ou ictériques est donc nécessaire et permettrait un gain de temps dans la prise en charge optimale des patients.

Dans notre travail, nous présentons les causes et les mécanismes d'interférences de l'hémolyse, de l'ictère et de la lipémie, puis nous abordons les méthodes de leur détection dans les échantillons biologiques. Nous exposons ensuite les protocoles reconnus pour la vérification au laboratoire de ces interférences en insistant sur la notion de seuils limites ainsi que sur des propositions de conduite à tenir lors de la détection d'un échantillon présentant une association de ses molécules interférentes. Nous terminons notre travail par la présentation des résultats de publications ayant étudiés les interférences de l'hémolyse, de l'ictère et de la lipémie sur les dosages des principaux paramètres biochimiques.



I. PHASE PRÉANALYTIQUE ET INTERFÉRENCES

La biologie médicale est une science visant à générer des informations utiles pour le diagnostic, le pronostic et le suivi thérapeutique de nombreuses pathologies humaines. La qualité de l'information dépend essentiellement de la qualité de toutes les activités contribuant à l'ensemble du processus d'analyse, c'est-à-dire de la sélection des bons tests au bon moment pour le bon patient, jusqu'à l'interprétation appropriée des résultats des tests et la prise de décisions médicales adéquates en fonction des données de laboratoire.(1)

La réalisation des analyses de laboratoire fait partie d'un enchaînement de processus qui fait intervenir plusieurs professionnels, tous ayant un rôle essentiel dans la prise en charge du patient. La figure suivante récapitule les différentes étapes constituant le processus d'un prélèvement : phase préanalytique, analytique et post-analytique. (2)

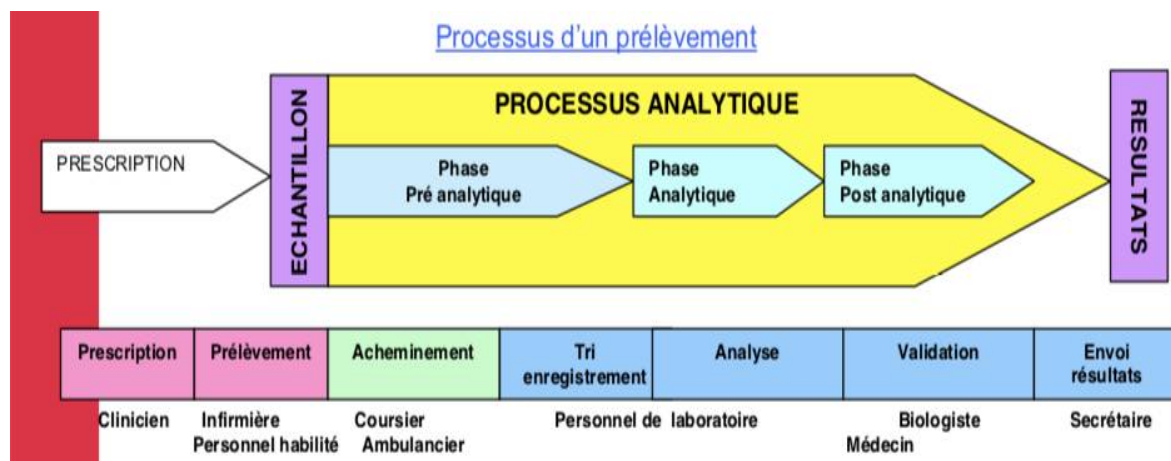


Figure 1 : processus d'un prélèvement (2)

A- Phase préanalytique

La phase préanalytique est une étape cruciale qui englobe une série d'activités à forte intensité manuelle. Elle commence avec la prescription du médecin du test le mieux adapté aux symptômes du patient, la préparation du patient pour le test, la collecte, la manipulation, le transport, le stockage et la préparation des échantillons biologiques. (3) Selon cette définition, la qualité des échantillons biologiques représente un aspect essentiel pour obtenir des informations diagnostiques précises et fiables. (3)

La figure ci-après résume les différentes étapes constituant le circuit du prélèvement (4).

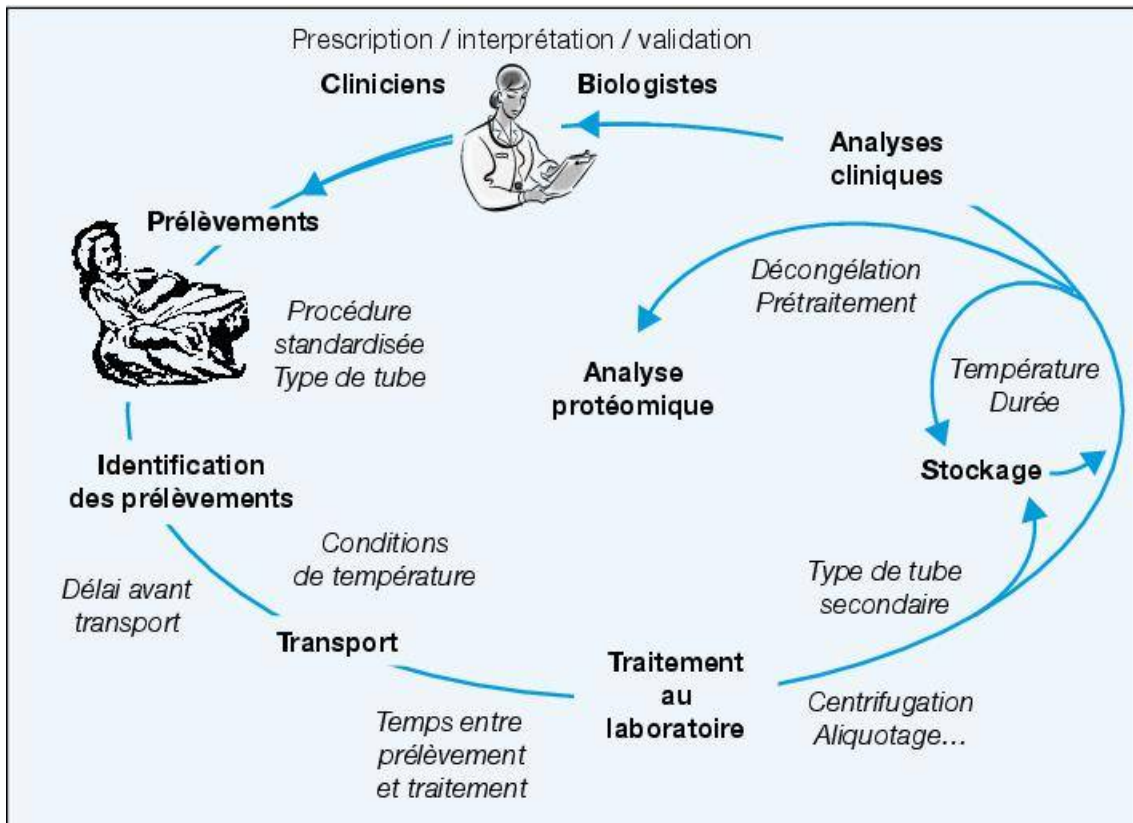


Figure 2 : circuit du prélèvement (4)

Les procédures nécessaires à l'obtention d'échantillons biologiques adéquats doivent donc être conçues pour préserver leur intégrité selon les conditions chimiques et physiques d'origine, qui doivent être aussi représentatives que possible de l'état biologique in vivo. Les tests de laboratoire sont réalisés à partir de nombreux fluides biologiques, qui peuvent être normalement présents dans l'organisme (sang, urine, liquide céphalo-rachidien, liquide amniotique, etc.) ou résulter de divers états pathologiques (fluides cavitaires et kystiques, etc.).(1)

Bien que chaque fluide et tissu biologique puisse être un échantillon représentatif pour générer des informations diagnostiques et pronostiques utiles dans le domaine de la santé et de la maladie, les échantillons de sang sont les plus utilisés en raison de la simplicité de leur collecte et de la stabilité dans le temps de la concentration des analytes. Chaque échantillon a des besoins spécifiques en matière de collecte et de traitement préanalytique et de manipulation. Cependant, certains principes généraux caractérisant les échantillons de sang peuvent être étendus à tous les autres produits biologiques.(1)

Bien que la plupart des activités constituant la phase préanalytique sont réalisées en dehors de l'environnement du laboratoire, ce dernier joue un rôle majeur dans la réduction de la vulnérabilité de cette phase, en contrôlant systématiquement les erreurs, en développant des indicateurs de qualité et en formant le personnel de santé aux meilleures pratiques de la phase préanalytique.(5)

1. La prescription médicale :

Cette démarche débute par le formulaire de demande d'analyse, qui indique les différentes informations qui suivent (6):

- Nom, sexe et date de naissance du patient
- Numéro d'identification spécifique à l'hôpital
- Service / clinique / adresse
- Nom du médecin demandeur (numéro de téléphone en cas de demandes urgentes)
- Contexte clinique ou diagnostic
- Examen demandé
- Nature du prélèvement
- Heure et jour du prélèvement
- Éventuelle médication

Il est essentiel de donner des informations suffisantes pour identifier le patient. En effet, dans la pratique, des éléments indispensables sont souvent omis, entraînant un délai dans l'analyse et rendant dans certains cas toute interprétation des résultats impossible. (6)

2. La préparation du patient : l'état de jeune

Le jeûne constitue un élément essentiel assurant des conditions analytiques optimales.(7) Cependant, il existe une grande hétérogénéité dans la définition du "jeûne" actuellement utilisée par les différents établissements de santé, ainsi que dans la littérature scientifique : 2 heures, 8 heures ou 12 Heures(8). En raison de l'influence reconnue de l'effet du jeûne sur la concentration de nombreux paramètres de laboratoire, il est absolument essentiel de normaliser et d'harmoniser les exigences en matière de jeûne pour les tests.(9)

. Les résultats d'un article publié en 2013 par Kackov et Simundic sur la préparation des patients ambulatoires à la prise de sang, ont révélé des résultats intéressants (10). Lorsqu'on leur a demandé s'ils étaient à jeun, 93 % (140/150) des patients interrogés ont confirmé. Cependant, lorsqu'on leur a demandé d'expliquer la signification de l'état de jeûne, seuls 58 patients sur 150 ont été capables d'identifier correctement l'état de jeûne tel qu'il est défini en Croatie par les recommandations nationales, à savoir 12 heures de jeûne après le dernier repas (11). La plupart des 82 patients qui pensaient à tort que leur préparation à l'état de jeûne était adéquate, pensaient que le temps exact qui doit s'écouler depuis le dernier repas n'avait pas d'importance. En outre, 5 patients pensaient qu'au moins 10 heures devaient s'écouler et 13 patients pensaient qu'au moins 8 heures devaient s'écouler depuis le dernier repas avant le prélèvement sanguin (10).

Il existe une grande hétérogénéité dans les instructions concernant la préparation des patients aux tests de laboratoire. D'après les résultats d'un article publié en 2014 par le groupe de travail sur la phase préanalytique de la Fédération européenne de chimie clinique et de médecine de laboratoire (EFLM), le temps qui doit s'écouler depuis le dernier repas varie selon les pays

(9). Les recommandations italiennes exigent que le patient soit à jeun pendant au moins 8 heures, tandis que les recommandations australiennes exigent un jeûne de 10 à 16 heures avant les tests de laboratoire pour le bilan lipidique. D'où l'importance d'harmoniser les instructions relatives à la préparation des patients et de diffuser ces informations aux patients et aux cliniciens (9).

Le tableau suivant montre qu'il existe une grande diversité dans les recommandations du "jeûne" actuellement utilisées par les professionnels de santé et dans la littérature selon différents pays.

Tableau 1 : *Recommandations disponibles sur plusieurs sites Internet nationaux de LTO (Lab Test Online) concernant les exigences de jeûne pour certaines analyses de sang sérique/plasma. (9)*

	Glucose	ALP	Triglycérides	Bilirubine
USA	Un jeûne de 8 heures est recommandé (rien à manger ni à boire sauf de l'eau)	Le jeûne est préférable mais pas obligatoire pour ce test.	Un jeûne de 9 à 12 heures est recommandé (seule l'eau est autorisée, l'alcool ne doit pas ne pas consommer d'alcool pendant les 24 heures précédant le test)	Les exigences en matière de jeûne varient selon les laboratoires. Demandez à votre laboratoire ou fournisseur de soins de santé pour obtenir des instructions. Vous devrez peut-être être à jeun (rien que de l'eau) pendant plusieurs heures avant le test.
UK	Un jeûne de 8 heures est recommandé	Le jeûne est préférable mais pas obligatoire pour ce test.	Un jeûne de 9 à 12 heures est recommandé (seule l'eau est autorisée, l'alcool ne doit pas ne pas consommer d'alcool pendant les 24 heures précédant le test)	Aucune condition requise
Australie	Un jeûne de 8-10 heures est recommandé	Une nuit de jeûne est recommandée*	Un jeûne de 10 à 16 heures est recommandé (seule l'eau est autorisée, l'alcool ne doit pas ne pas consommer d'alcool pendant les 24 heures précédant le test)	Aucune condition requise
Allemagne	Un jeûne de 12 heures est recommandé	Une nuit de jeûne est recommandée*	Un jeûne de 12 à 14 heures est recommandé (seule l'eau est autorisée, l'alcool ne doit pas ne pas consommer d'alcool pendant les 24 heures précédant le test)	Aucune condition requise
République tchèque	Un jeûne de 8-10 heures est recommandé	Le jeûne est recommandé	Un jeûne de 12 à 14 heures est recommandé (seule l'eau est autorisée, l'alcool ne doit pas ne pas consommer d'alcool pendant les 24 heures précédant le test)	Aucune condition requise
Italie	Un jeûne de 8 heures est recommandé (rien à manger ni à boire sauf de l'eau)	Aucune condition requise	Un jeûne de 8 heures est recommandé	Aucune condition requise

*La prise d'un repas peut augmenter légèrement la phosphatase alcaline (ALP) pendant quelques heures chez certaines personnes.

3. Mécanismes d'interférence

Pendant le prélèvement, il faut éviter l'hémolyse et, dans le cas où le patient suit un traitement intraveineux, le sang doit être prélevé sur un site éloigné (par exemple, le bras opposé) pour éviter toute interférence.

L'identification correcte de tous les spécimens et leur transport sans délai au laboratoire doivent être assurés. Une centrifugation rapide permet la séparation des cellules sanguines et l'obtention du sérum ou plasma. Lorsque l'analyse est retardée ou lorsque les échantillons sont envoyés à des laboratoires externes, la dégradation des paramètres fragiles doit être évitée par la congélation ou la réfrigération du sérum ou du plasma.(6)

Les échantillons de sang veineux peuvent être impropres à l'analyse pour diverses raisons, notamment les erreurs d'identification, la contamination par des produits de perfusion, l'hémoconcentration due à une stase veineuse prolongée pendant la ponction veineuse, un volume d'échantillon ou un rapport sang/anticoagulant inapproprié, ainsi que la dégradation ou la détérioration de l'échantillon pendant le prélèvement, le transport, la préparation ou le stockage.(12)

La majorité des auteurs rapportent que les échantillons hémolysés sont la cause la plus fréquente de non-conformité des échantillons dans les laboratoires (40-70%), suivie par un volume d'échantillon insuffisant ou inapproprié (10-20%), des échantillons biologiques collectés dans le mauvais récipient (5-15%) et une coagulation insuffisante (5-10%) .(13) Les causes moins fréquentes d'altération de la qualité des échantillons (soit environ 3 % dans l'ensemble) comprennent la contamination par les liquides de perfusion (le plus souvent des

solutions salines ou de glucose),(14) la contamination croisée des additifs des tubes de sang,(15) les conditions de stockage inappropriées des échantillons ou les cycles répétés de congélation-décongélation.(16)

Bien que d'autres substances interférentes, en particulier des concentrations élevées de bilirubine et de lipides, soient connues pour altérer potentiellement la qualité des échantillons, la présence de ces composés est souvent attribuable à des causes biologiques (c'est-à-dire l'ictère, la dyslipidémie) plutôt qu'à des erreurs préanalytiques (à l'exception d'une turbidité élevée du sérum ou du plasma due au non-respect des exigences minimales en matière de jeûne)(9)

La figure suivante récapitule les interférences pouvant survenir au cours du circuit du prélèvement. (17)

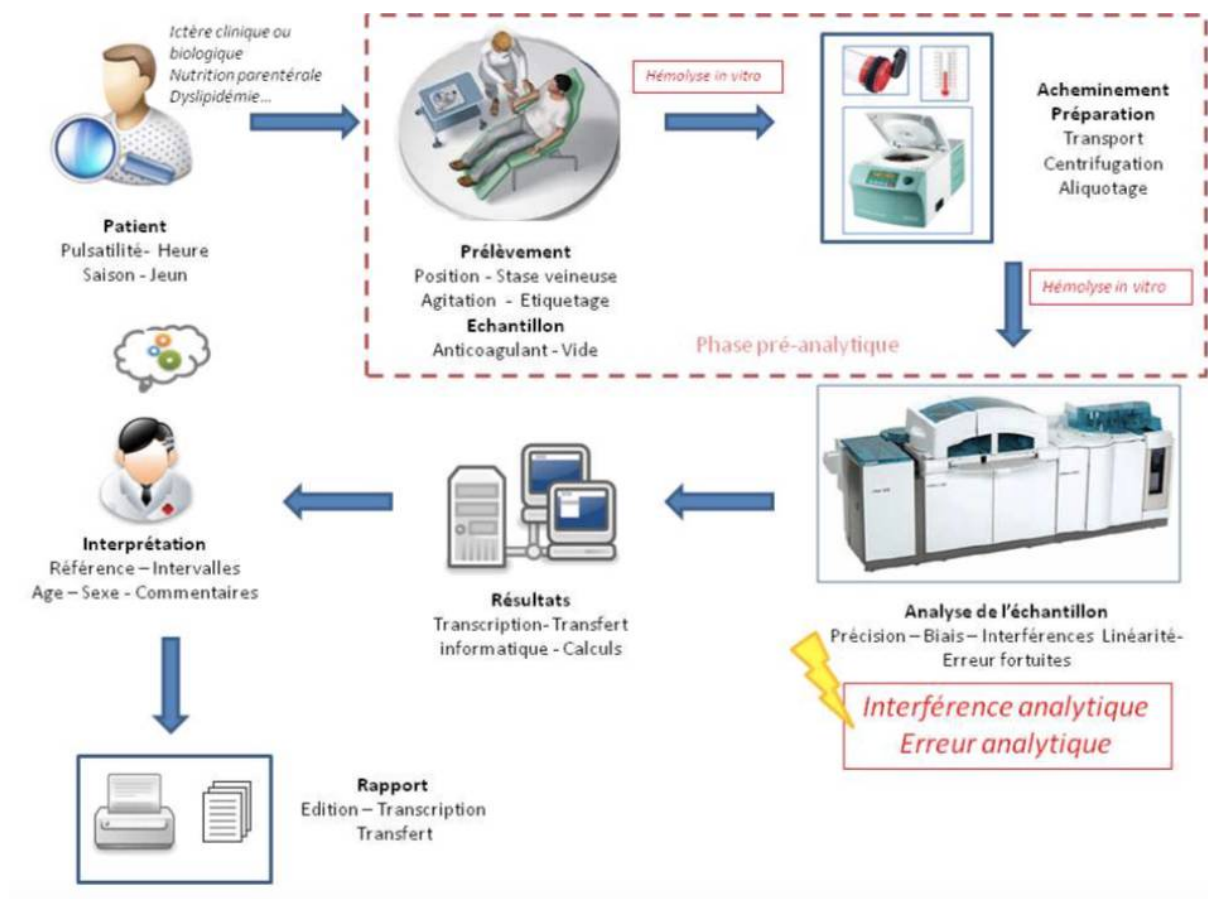


Figure 3 : circuit du prélèvement et interférences(17)

Il est essentiel, avant chaque prélèvement, de recueillir les renseignements cliniques du patient, pour différencier les interférences qui peuvent être la résultante de certaines pathologies :(18)

- L'hémolyse : l'hémolyse peut être le résultat d'une infection (par exemple le paludisme), d'un accident transfusionnel ou d'une anémie hémolytique

- L'ictère : les maladies affectant plus spécifiquement le foie sont impliquées dans une élévation excessive de la bilirubine dans le sang. Les fluides biologiques et la peau se trouvent ainsi colorés en brun ou jaune foncé.

-La lipémie : le diabète, une pancréatite aiguë, une altération du métabolisme des graisses, un régime riche en graisses ou un syndrome de Cushing peuvent provoquer un aspect trouble du sérum :la lipémie.

Il est bon à savoir que quelques paramètres peuvent être influencés par des éléments tels que : l'état de jeûne, la variabilité nyctémérale, la posture etc., et une standardisation des conditions d'échantillonnage peut s'avérer nécessaire.

B- Les interférences

On définit l'interférence comme une source de perturbation dans la mesure de concentration d'un élément à analyser en raison d'un autre composant ou d'une caractéristique de l'échantillon. (19)Elle est donc la conséquence de la présence d'une substance dans l'échantillon qui modifie la juste valeur du résultat de la détermination d'un analyte exprimé en concentration ou en activité. (20)

Les interférences peuvent être endogènes ou exogènes.

Les interférences endogènes proviennent de substances présentes naturellement dans l'échantillon du patient. Il peut s'agir de substances naturelles ou de facteurs liés à la santé : hémolyse (hémoglobine et autres substances), bilirubine, lipides, protéines, anticorps (auto-anticorps, anticorps hétérophiles), concentration excessive de l'analyte et substances à réaction croisée, par exemple le bicarbonate sur l'électrode sélective d'ions chlorure (ISE)(21), les cétones sur la créatinine par la technique de Jaffé...

L'interférence exogène résulte de substances qui ne se trouvent pas naturellement dans l'échantillon du patient, tel que les médicaments et leurs métabolites.

Dans tous les cas, ces interférences sont des sources d'erreurs qui vont impacter la fiabilité, la justesse et l'exactitude des résultats. Ainsi, en biologie médicale l'erreur totale inclut l'erreur analytique et l'erreur liée à la phase préanalytique et à la phase post analytique. L'erreur analytique correspond à la différence entre la valeur mesurée d'une grandeur et sa valeur vraie. C'est donc la somme de l'erreur systématique (erreur de justesse) et de l'erreur aléatoire (défaut de fidélité). Par ailleurs, les substances interférentes peuvent être à l'origine d'erreurs s'ajoutant à l'erreur analytique et donc elles doivent être détectées dès la phase préanalytique ou pendant la phase analytique et être à l'origine d'alertes. Les fabricants de trousse diagnostics et de kits réactifs fournissent des informations concernant la sensibilité de chacun de leur dosage aux principales substances interférentes et ce sur la base d'études faites par le fabricant. Selon la norme ISO 15189, le biologiste médicale lors de la vérification des méthodes analytiques peut soit utiliser les données fournisseur, soit les vérifier afin de satisfaire ses propres critères de validation.



II. L'HÉMOLYSE, L'ICTÈRE ET LA LIPÉMIE :

A- L'hémolyse :

1. Définition :

L'hémolyse correspond à la rupture de la membrane plasmique du globule rouge, entraînant la libération de son contenu intracellulaire, contenant une grande quantité d'hémoglobine. L'hémolyse se traduit, suite à la centrifugation de l'échantillon de sang total, par une coloration rose à rouge du plasma ou du sérum. La coloration est plus ou moins intense selon la concentration d'hémoglobine libre.(22) Sur le plan physiologique, l'hémoglobine libre se retrouve dans le plasma à des concentrations de moins de 0,02 g/L (1,2 $\mu\text{mol/L}$) ou dans le sérum à des concentrations de moins de 0,05 g/L (3,1 $\mu\text{mol/L}$). L'hémolyse, perceptible visuellement 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 bien identifiable pour une lyse de 0,5 % des globules rouges qui correspond à 0,5 g/L (31 $\mu\text{mol/L}$) d'hémoglobine libre. (23,24) La détection visuelle de l'hémolyse peut cependant être gênée par l'aspect ictérique ou lactescent de l'échantillon.(22)

2. Les causes de l'hémolyse :

On distingue l'hémolyse in vivo et l'hémolyse in vitro. Selon les données de la littérature, l'hémolyse in vivo est en cause dans 3,2 % des échantillons hémolysés.(23). Ce pourcentage serait par ailleurs variable en fonction des services cliniques inclus dans les études.

a. Hémolyse in vitro (25)

Divers facteurs associés au prélèvement, à la manipulation, au transport, au traitement et au stockage des échantillons de sang ont été associés à un risque élevé de produire des échantillons hémolysés. Il est compréhensible que la plupart de ces problèmes préanalytiques résultent de procédures et/ou de matériels non adaptés pour la collecte du sang, alors que les problèmes de transport, de traitement et de stockage ne représentent qu'une minorité des cas.(25)

En ce qui concerne les causes de l'hémolyse accidentelle aux urgences, Burns et Yoshikawa ont examiné les différents facteurs intervenant dans le processus de prélèvement sanguin afin d'identifier ceux qui présentent un risque accru d'hémolyse(26) . L'analyse des données a montré que les principaux facteurs contribuant à l'hémolyse mécanique des échantillons prélevés aux urgences étaient les suivants :

- Prélèvement de sang dans le bras distal plutôt que dans la fosse antécubitale,
- Utilisation d'une canule en plastique de petit diamètre (c.-à-d. de calibre 22) plutôt que de plus grand diamètre (c.-à-d. de calibre 20)
- Remplissage du tube à un niveau inférieur à la moitié d'un tube plein
- Pose prolongée d'un garrot (>2min)
- Utilisation d'une canule en plastique par rapport à une canule en métal.

Par ailleurs, d'autres causes d'hémolyse in vitro ont été rapportées lors de la procédure de ponction veineuse (35,38):

- Aspiration forte, en particulier lors de la ponction de veines superficielles. L'aspiration à l'aide d'aiguilles fines devrait provoquer moins d'hémolyse que l'utilisation de grosses aiguilles, car le débit, la vitesse d'écoulement et la turbulence sont moindres, et par conséquent l'hémolyse serait plus faible(27)
- Obstruction partielle d'un cathéter veineux ou artériel. En conséquence, l'aspiration est plus intense si l'échantillon est prélevé avec une seringue.
- Agitation trop vigoureuse des tubes prélevés
- Centrifugation du sang avant la fin de la coagulation
- Centrifugation d'échantillons partiellement coagulés provenant de patients sous anticoagulants
- Pression positive ou négative dans les tubes de prélèvement
- Dilution du sang avec une solution hypotonique
- Congélation-décongélation du sang total
- Conservation ou transport du sang total pendant plusieurs jours à température ambiante

Il est intéressant de noter que le prélèvement de sang à l'aide d'une seringue produit le même degré d'hémolyse que celui observé en utilisant un système de tubes sous vide (25) . En effet, bien que le prélèvement de sang à l'aide d'une seringue et le transfert du sang dans le tube primaire soient fermement

déconseillés en raison du risque biologique élevé lié aux blessures par piqûre d'aiguille, cette procédure préviendrait le risque bien connu de dégradation mécanique des globules rouges due à la combinaison de systèmes de prélèvement de sang sous vide avec des canules (en raison de la force d'aspiration excessive du vide à travers la canule).(28)

Au total, l'hémolyse in vitro est de loin la cause la plus fréquente. Cependant l'exclusion systématique de ces échantillons (avec non-conformité) est cependant risquée en raison du risque de l'existence d'une hémolyse in vivo nécessitant le rendu de certains résultats. D'où l'importance des renseignements cliniques

b. Hémolyse in vivo

L'hémolyse in vivo est définie comme la destruction prématurée des globules rouges dans la circulation, qui peut conduire à une anémie hémolytique lorsque l'activité de la moelle osseuse est incapable de compenser l'importance de la dégradation des globules rouges(29) .

Selon le site, l'hémolyse in vivo peut être divisée entre intravasculaire et extravasculaire. La première situation se produit en association avec des pathologies telles que les prothèses de valves cardiaques, les troubles héréditaires des GR (par exemple, le déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase [G6PD], la sphérocytose héréditaire, les anomalies de l'Hb, le purpura thrombocytopénique thrombotique [TTP], la coagulation intravasculaire disséminée [DIC] et l'hémoglobinurie paroxystique nocturne [PNH])(30). L'hémolyse extravasculaire, caractérisée par la dégradation des GR dans la rate et d'autres organes réticulo-endothéliaux, est typique de l'anémie hémolytique auto-immune (AIHA) et de la sphérocytose héréditaire. Néanmoins, l'hémolyse intra et extravasculaire peuvent parfois se produire de manière concomitante.

Les états hémolytiques acquis peuvent être dus à des troubles immunitaires, des produits chimiques et des médicaments toxiques, des agents antiviraux (par exemple la ribavirine)(31), des lésions physiques des érythrocytes et des infections.

Le tableau suivant récapitule les causes de l'hémolyse *in vivo*.

Tableau 2: Liste des différentes causes d'hémolyse survenant *in vivo* (32)

Causes de l'hémolyse <i>in vivo</i>	
Hérité	Acquis
Défauts d'hémoglobine	Causes à médiation immunitaire
Défauts de la membrane RBC	Hypersplénisme
Métabolisme défectueux des globules rouges	Brûlures
Déficit en glucose-6-phosphate déshydrogénase	Infections
Déficit en pyruvate kinase	Domages mécaniques en circulation
Autres déficits en enzymes érythrocytaires	Erreurs d'immunophénotypage en transfusion sanguine
	Drogues et toxines

3. Mécanismes d'interférence de l'hémolyse :

Il s'agit de l'interférence d'apport, de la dilution de l'échantillon et de l'interférence chimique

a. Interférence d'apport : libération des composants cellulaires dans l'échantillon

Les analytes les plus exposés à cet effet sont ceux dont la différence de concentration entre les compartiments intra- et extracellulaires est supérieure à 10 fois. Les analytes les plus abondants dans les GR sont la LDH, le phosphate inorganique, le potassium, l'ASAT et l'acide folique, qui sont présents dans les GR à des concentrations 160, 100, 40, 40 et 30 fois supérieures à celles du sérum ou du plasma, respectivement. (23,33).

L'hémoglobine acellulaire peut contribuer à la mesure des protéines totales dans le sérum, et peut également affecter l'électrophorèse des protéines sériques, où les complexes hémoglobine-haptoglobine se déplacent dans les régions α 2-globuline et β -globuline, tandis que l'hémoglobine acellulaire peut migrer sous la forme d'une bande rougeâtre diffuse dans la région β -globuline. (23)

b. Interférence physique spectrale

L'hémoglobine provenant des globules rouges au cours de l'hémolyse (c'est-à-dire l'hémoglobine acellulaire) peut interférer avec les tests spectrophotométriques sur une gamme de longueurs d'onde, en fonction d'un certain nombre de facteurs, notamment la concentration d'hémoglobine acellulaire, la longueur d'onde de mesure, le type de réactif et l'âge de l'échantillon. L'hémoglobine absorbe fortement à 415 nm (longueur d'onde de Soret), 540 et 570 nm. L'oxyhémoglobine absorbe entre 531 et 543 nm alors que

l'HHb présente un pic d'absorption à 560nm. Les dosages colorimétriques qui utilisent des mesures d'absorbance dans une ou plusieurs de ces plages sont donc sensibles aux interférences tel que le fer, la lipase, l'albumine, la γ -glutamyl transférase et les phosphatases alcalines. (34,35)

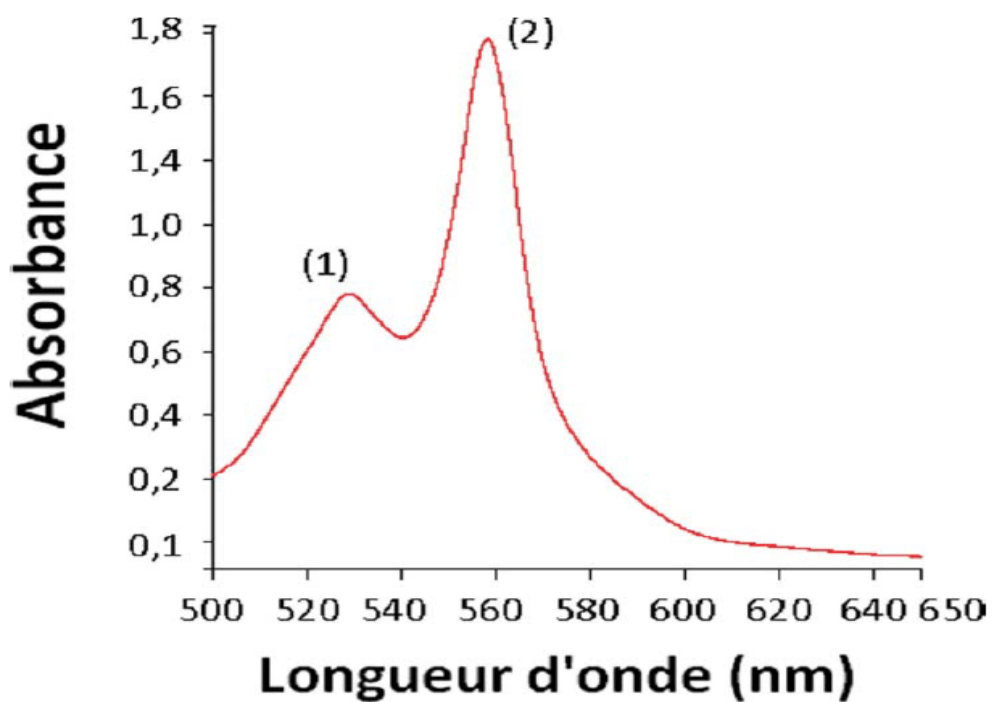


Figure 4 : Spectre d'absorbance d'un échantillon de sang. (1) Pic d'absorbance de la HbCO à 530 nm. (2) Pic d'absorbance de l'HHb à 560 nm.(36)

c. Dilution de l'échantillon

Si l'hémolyse est suffisamment prononcée, elle peut provoquer un effet de dilution pour les analytes. Un biais cliniquement significatif dû à ce mécanisme ne se produira donc qu'en cas d'hémolyse sévère (>3 g/L d'hémoglobine acellulaire)(37).

d. Interférence chimique

L'interférence chimique est liée aux perturbations provoquées par l'hémoglobine lors de la réaction utilisée pour le dosage des paramètres entraînant une surestimation ou une sous-estimation du résultat rendu.

Ce type d'interférence se produit par de nombreux mécanismes directs et indirects :

Les mécanismes directs d'interférence chimique de l'hémoglobine sont ceux qui interfèrent avec les réactions chimiques et/ou leurs composants :

- Activité de l'adénylate cyclase des globules rouges à l'origine d'un résultat faussement élevé de l'activité des créatines kinase des échantillons hémolysés.
- Inhibition par l'hémoglobine acellulaire de la réaction de Jendrassik-Grof à l'origine d'un taux faussement bas de la bilirubine. (38)

Les mécanismes indirects sont ceux qui affectent les analytes par le biais de certaines modifications de la structure chimique de l'analyte :

- Précipitation de l'analyte
- Formation de complexes entre l'analyte et les substances chimiques libérées par le globule rouge

- Protéolyse : par exemple, il est bien connu que de nombreux tests d'immunochimie (par exemple, les tests de troponine) sont affectés par ce mécanisme. (39)

En résumé, les quatre principaux mécanismes d'interférence connus sont ;

- Par dilution : L'effet de dilution causé par la fuite de composants intracellulaires dans le liquide environnant, en particulier dans les cas d'hémolyse sévère, peut entraîner des valeurs inférieures de glucose, de sodium et de calcium (35,40).
- Par apport : se produit lorsque les constituants du plasma sont à des concentrations inférieures à celles des constituants des érythrocytes. La libération de constituants érythrocytaires peut entraîner une augmentation des valeurs sériques. Il s'agit des taux de potassium, de phosphate, d'ASAT et de LDH (23,35).
- Analytique spectrale : les pics d'absorbance de l'Hb se produisent à 417, 540 et 575 nm et à 415 nm (onde de Soret). A ces longueurs d'onde, une interférence spectrophotométrique se produit en raison d'une augmentation de l'absorbance optique ou d'un changement de la valeur à blanc(23,34,41,42). C'est le cas pour les dosages de l'ALP, de la GGT, de l'amylase et du fer(41–43)
- Analytique chimique avec mise en jeu, le plus souvent, des mécanismes suivants :
 - o Activité peroxydase de l'hémoglobine avec pour conséquence :
 - Inhibition de la formation de la couleur du diazonium et donc une sous-estimation de la bilirubine.

- Décomposition du peroxyde d'hydrogène avec surestimation du cholestérol.
- Activité adénylate kinase intracellulaire a été attribuée à l'interférence dans le dosage de la CK avec surestimation des résultats .

B-Ictère

1. Définition :

L'ictère est défini par un taux excessif de bilirubine dans le sang ou le plasma. Les fluides biologiques et la peau se trouvent ainsi colorés en brun ou jaune foncé. (18) A partir d'une concentration de bilirubine libre d'environ 25 $\mu\text{mol/L}$ soit 14,71 mg/L , on parle d'un plasma à aspect ictérique(44).

2. Rappel sur la bilirubine :

L'hème est libéré lors de la destruction des globules rouges. Elle est d'abord convertie en biliverdine puis en bilirubine non conjuguée dans les macrophages du système endothélial réticulaire(45). Environ 250 mg de bilirubine par jour sont produits par un adulte moyen par le catabolisme de la molécule d'hème(46).

La bilirubine non conjuguée est liposoluble et passe facilement à travers les membranes cellulaires pour se lier à l'albumine dans le sérum, tandis que la bilirubine libre (non liée) est absorbée par les hépatocytes du foie et convertie en bilirubine conjuguée. La bilirubine conjuguée est soluble dans l'eau et est transportée des hépatocytes dans le système des voies biliaires où elle passe dans les intestins et est excrétée dans les selles. Une partie de la bilirubine conjuguée est réabsorbée dans les intestins et est excrétée par les reins sous forme d'urobilinogène. (46,47)

La figure suivante récapitule le métabolisme de la bilirubine :

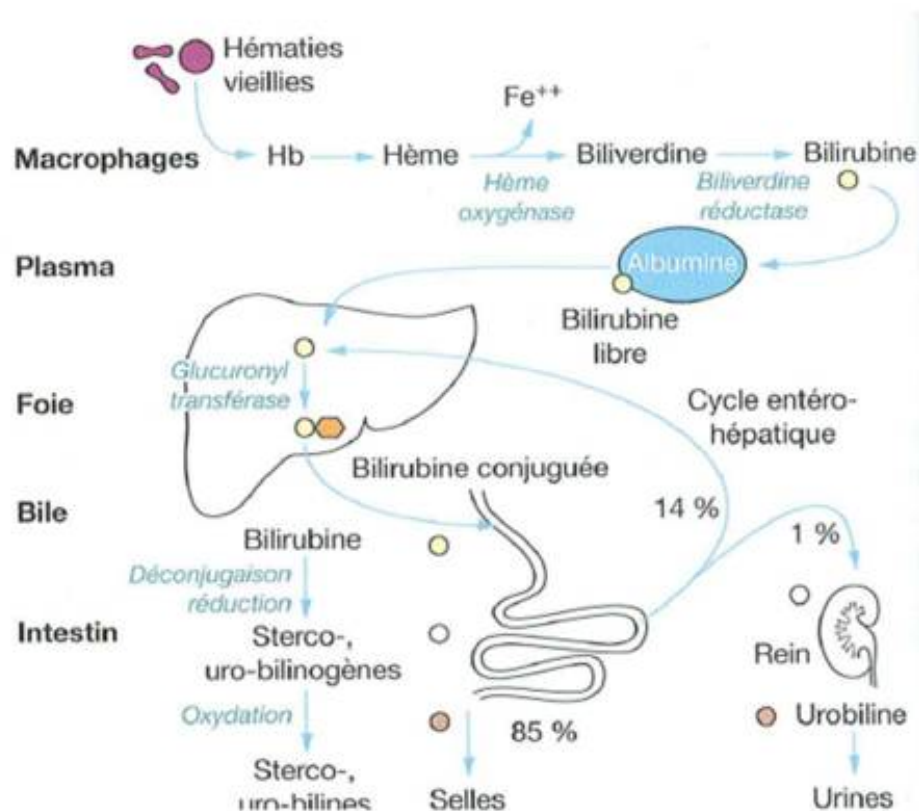


Figure 5 : métabolisme de la bilirubine (48)

3. Causes de l'ictère :

L'ictère survient lorsqu'il y a des perturbations le long de la voie métabolique de la bilirubine, entraînant une augmentation de la bilirubine non conjuguée (p. ex., due à une destruction accrue des globules rouges ou à une altération de la conjugaison de la bilirubine) ou de la bilirubine conjuguée (p. ex., à partir de lésions hépatocellulaires ou d'obstructions des voies biliaires)(46,47).

L'ictère à la bilirubine libre (ou non conjuguée) est principalement dû à une hémolyse in vivo dans laquelle la forte quantité de bilirubine produite est supérieure à la faculté du foie de métaboliser la bilirubine. Un taux élevé de bilirubine libre peut aussi être dû à une immaturité enzymatique ou à une autre altération du mécanisme de conjugaison de la bilirubine. Une hausse de la bilirubine conjuguée est le résultat le plus fréquemment d'un ictère choléstatique. (44) Le tableau suivant représente les différents types d'ictères

Tableau 3: les différents types d'ictères. (49)

Signes cliniques d'ictère pathologique ou de sévérité ? Bilan paraclinique de 1^{re} intention Bilirubinémie libre et conjuguée, albuminémie Groupe sanguin (mère, bébé), Coombs (bébé), NFS, réticulocytes CRP, ECBU									
↓	↓								
ICTÈRE À BILIRUBINE LIBRE	ICTÈRE À BILIRUBINE CONJUGUÉE								
ICTÈRES BÉNINS	ICTÈRES PATHOLOGIQUES								
Ictère simple Ictère au lait de mère	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <th style="text-align: center;">HÉMOLYSE</th> <th style="text-align: center;">CHOLESTASES INTRAHÉPATIQUES</th> </tr> <tr> <td style="vertical-align: top;"> Incompatibilités maternofoetales <ul style="list-style-type: none"> • dans le système ABO • dans le système Rhésus Hémolyses constitutionnelles <ul style="list-style-type: none"> • maladie de Minkowski-Chauffard • déficits en G6PD et pyruvate-kinase </td> <td style="vertical-align: top;"> Infections postnatales <ul style="list-style-type: none"> • <i>E. Coli</i> • CMV, EBV, echovirus, hépatites infectieuses Maladies génétiques et métaboliques <ul style="list-style-type: none"> • mucoviscidose, déficit en α1-antitrypsine • Niemann-Pick Syndrome d'Alagille (paucité ductulaire syndromique) Autres : nutrition parentérale prolongée... </td> </tr> <tr> <th style="text-align: center;">AUTRES CAUSES</th> <th style="text-align: center;">CHOLESTASES EXTRAHÉPATIQUES</th> </tr> <tr> <td style="vertical-align: top;"> Infections maternofoetales Anomalies de conjugaison de bilirubine <ul style="list-style-type: none"> • maladie de Gilbert • maladie de Crigler-Najjar Hypothyroïdie Résorption d'hématome </td> <td style="vertical-align: top;"> Atrésie biliaire Autres anomalies des voies biliaires <ul style="list-style-type: none"> • kyste du cholédoque • lithiase biliaire </td> </tr> </table>	HÉMOLYSE	CHOLESTASES INTRAHÉPATIQUES	Incompatibilités maternofoetales <ul style="list-style-type: none"> • dans le système ABO • dans le système Rhésus Hémolyses constitutionnelles <ul style="list-style-type: none"> • maladie de Minkowski-Chauffard • déficits en G6PD et pyruvate-kinase 	Infections postnatales <ul style="list-style-type: none"> • <i>E. Coli</i> • CMV, EBV, echovirus, hépatites infectieuses Maladies génétiques et métaboliques <ul style="list-style-type: none"> • mucoviscidose, déficit en α1-antitrypsine • Niemann-Pick Syndrome d'Alagille (paucité ductulaire syndromique) Autres : nutrition parentérale prolongée...	AUTRES CAUSES	CHOLESTASES EXTRAHÉPATIQUES	Infections maternofoetales Anomalies de conjugaison de bilirubine <ul style="list-style-type: none"> • maladie de Gilbert • maladie de Crigler-Najjar Hypothyroïdie Résorption d'hématome	Atrésie biliaire Autres anomalies des voies biliaires <ul style="list-style-type: none"> • kyste du cholédoque • lithiase biliaire
HÉMOLYSE	CHOLESTASES INTRAHÉPATIQUES								
Incompatibilités maternofoetales <ul style="list-style-type: none"> • dans le système ABO • dans le système Rhésus Hémolyses constitutionnelles <ul style="list-style-type: none"> • maladie de Minkowski-Chauffard • déficits en G6PD et pyruvate-kinase 	Infections postnatales <ul style="list-style-type: none"> • <i>E. Coli</i> • CMV, EBV, echovirus, hépatites infectieuses Maladies génétiques et métaboliques <ul style="list-style-type: none"> • mucoviscidose, déficit en α1-antitrypsine • Niemann-Pick Syndrome d'Alagille (paucité ductulaire syndromique) Autres : nutrition parentérale prolongée...								
AUTRES CAUSES	CHOLESTASES EXTRAHÉPATIQUES								
Infections maternofoetales Anomalies de conjugaison de bilirubine <ul style="list-style-type: none"> • maladie de Gilbert • maladie de Crigler-Najjar Hypothyroïdie Résorption d'hématome	Atrésie biliaire Autres anomalies des voies biliaires <ul style="list-style-type: none"> • kyste du cholédoque • lithiase biliaire 								

4. Mécanismes d'interférences :

Il s'agit d'interférences physiques ou chimiques.

a. Interférences physiques spectrales

Des concentrations élevées de bilirubine dans le sérum ou le plasma peuvent provoquer une interférence spectrale avec les tests proches du pic d'absorption de la bilirubine à ~ 456 nm. Les spectres d'absorption des formes conjuguées et non conjuguées de la bilirubine sont légèrement distincts. Certains auteurs ont affirmé que l'interférence de ces deux formes de bilirubine ne peut être étudiée simplement en réalisant des surcharges avec l'une ou l'autre de ces espèces(50).

Le pH du milieu réactionnel influence aussi les interférences de la bilirubine, à pH=1 la bilirubine présente en effet un maximum à 380 nm alors qu'à pH=7, celui-ci est situé à 440 nm(34).

La technique d'électrophorèse capillaire des protéines sériques est une méthode facile, fiable et rapide mais exposée à de nombreuses interférences. Une étude a été réalisée dans le but de déterminer la perturbation de la bilirubine sur cette méthode : une analyse de 70 sérums ictériques a été réalisée sur l'automate Capillarys TM (Sebia) puis une seconde électrophorèse a été effectuée sur 40 spécimens suite à une photodégradation de la bilirubine. La méthode de Jendrassik et Grof et la méthode au biuret sur l'automate Konélab 20i TM (Thermo Electron Corporation) ont permis le dosage de la bilirubine et des protides. (51)

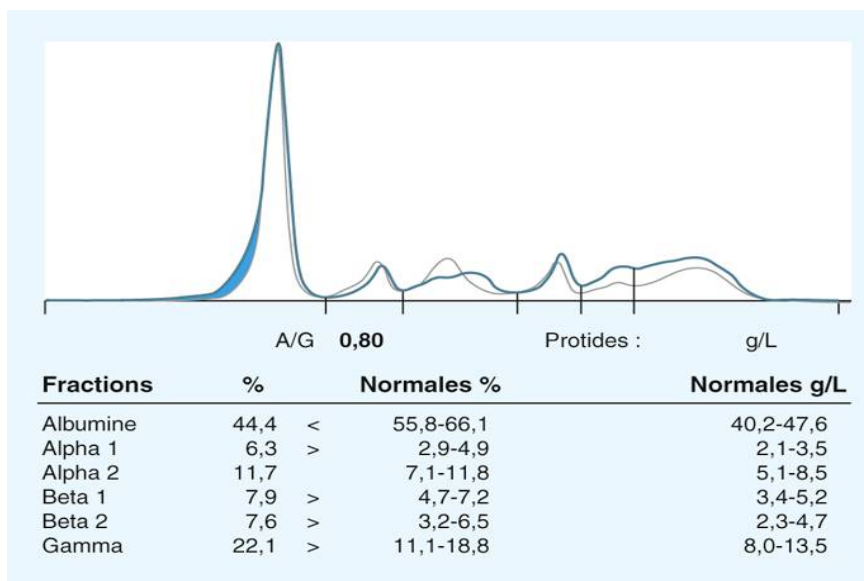


Figure 6 : Étalement de la fraction albumine pour une bilirubinémie de 218,2 $\mu\text{mol/L}$. (51)

Le test d'électrophorèse des protéines sériques est un examen informatif, en particulier associé à un commentaire rédigé par le biologiste (52). Simplicité, performances, reproductibilité, robustesse, standardisation, traçabilité et flexibilité ont été améliorées grâce à l'évolution vers l'électrophorèse capillaire. La lecture du tracé électrophorétique est un peu différente de celle de la méthode semi-automatique ou manuelle. Cependant, elle nécessite que le biologiste soit conscient de certaines spécificités, notamment concernant les interférences analytiques. Des concentrations élevées de bilirubine sont susceptibles de changer faiblement le tracé électrophorétique soit par l'apparition d'une fraction supplémentaire bien individualisée, soit par un étirement de la fraction de l'albumine du côté anodique. Les conséquences de ces interférences sur la manière d'interpréter les profils électrophorétiques demeurent également limitées. Une inspection visuelle attentive des tracés électrophorétiques est conseillée afin d'identifier ces interférences possibles.(51)

b. Interférences chimiques

La bilirubine peut réagir chimiquement avec les composants du milieu réactionnel, notamment en raison de sa nature facilement oxydable. Ce phénomène se retrouve dans tous les dosages faisant intervenir la réaction de Trinder(34,53). Les études les plus largement publiées portent sur les effets de l'interférence de la bilirubine dans les méthodes de Jaffé pour la mesure de la créatinine. En revanche, l'interférence de l'ictère sur les dosages immunochimiques est négligeable. (54,55).

C- Lipémie

1. Définition :

La lipémie est une turbidité de l'échantillon causée par l'accumulation de particules de lipoprotéines, qui peut être repérée de manière visuelle pour une teneur en triglycérides supérieure à 3,4 mmol/L soit 2,95g/L (56). Comme les lipoprotéines varient en taille, toutes les classes ne contribuent pas de manière égale à la turbidité. Les plus grosses particules, les chylomicrons, dont la taille est comprise entre 70 et 1000 nm, sont les plus susceptibles de provoquer une turbidité de l'échantillon. L'accumulation de petites particules, les lipoprotéines de haute densité (HDL), les lipoprotéines de basse densité (LDL) ne se produit pas avec les échantillons lipémiques (57).

2. Causes de la lipémie :

La lipémie est la conséquence d'une augmentation de la production et /ou d'une diminution du catabolisme des lipoprotéines riches en triglycérides : VLDL (lipoprotéines de très basse densité) et Chylomicrons.

Les causes majeures de l'hypertriglycéridémie sont le non-respect de la période de jeûne, la nutrition parentérale, le diabète, l'abus d'alcool, le syndrome métabolique, le syndrome néphrotique ou l'hypothyroïdie ainsi que certains médicaments dont les inhibiteurs de protéase, les œstrogènes et les stéroïdes (58,59).

Les patients ambulatoires doivent être correctement préparés et être à jeûne avant la réalisation d'un prélèvement sanguin

En milieu hospitalier, une certaine proportion d'échantillons lipémiques ne peut être évitée, car les patients sont admis dans les services d'urgence à différents moments de la journée et à différents intervalles depuis leur dernier repas.

Chez certains patients hospitalisés, la lipémie peut également être causée par un prélèvement trop précoce après l'administration d'émulsions lipidiques parentérales. Ces préparations (Intralipid®, Fresenius Kabi, Allemagne et Ivelip®, Baxter Healthcare Corporation, Belgique) sont utilisées comme nutrition parentérale totale pour les nouveau-nés (60) ou les patients en unité de soins intensifs (61). Si possible, afin d'éviter la lipémie, l'échantillon doit être prélevé au moins 5-6 heures après l'administration d'Intralipid® (72, 73, 74).

3. Mécanismes d'interférences de la lipémie :

Les interférences de la lipémie interviennent essentiellement sur les méthodes spectrophotométriques, turbidimétriques et néphélométriques c'est à dire sur les dosages utilisant les méthodes optiques de détection. L'interférence sur les méthodes immunologiques est moins fréquente lorsque la méthode utilisée est l'électro chimiluminescence.

a. Interférence physique et chimique

L'accumulation de lipoprotéines dans l'échantillon du patient peut interférer avec les analytes mesurés par des interactions physiques et chimiques. Ceci est particulièrement important dans les méthodes électrophorétiques. Bossuyt et al. ont décrit l'interférence de la lipoprotéine dans l'électrophorèse capillaire des protéines sériques (63). En analysant des échantillons de patients présentant une concentration accrue de triglycérides, ils ont détecté une morphologie anormale de la fraction α_2 -globuline. Ils ont également reproduit ce résultat en dopant des échantillons natifs avec des échantillons contenant une concentration élevée de triglycérides. La hauteur du pic était corrélée à la concentration de triglycérides, ce qui suggère que l'interférence était présente de manière dose-dépendante(56).

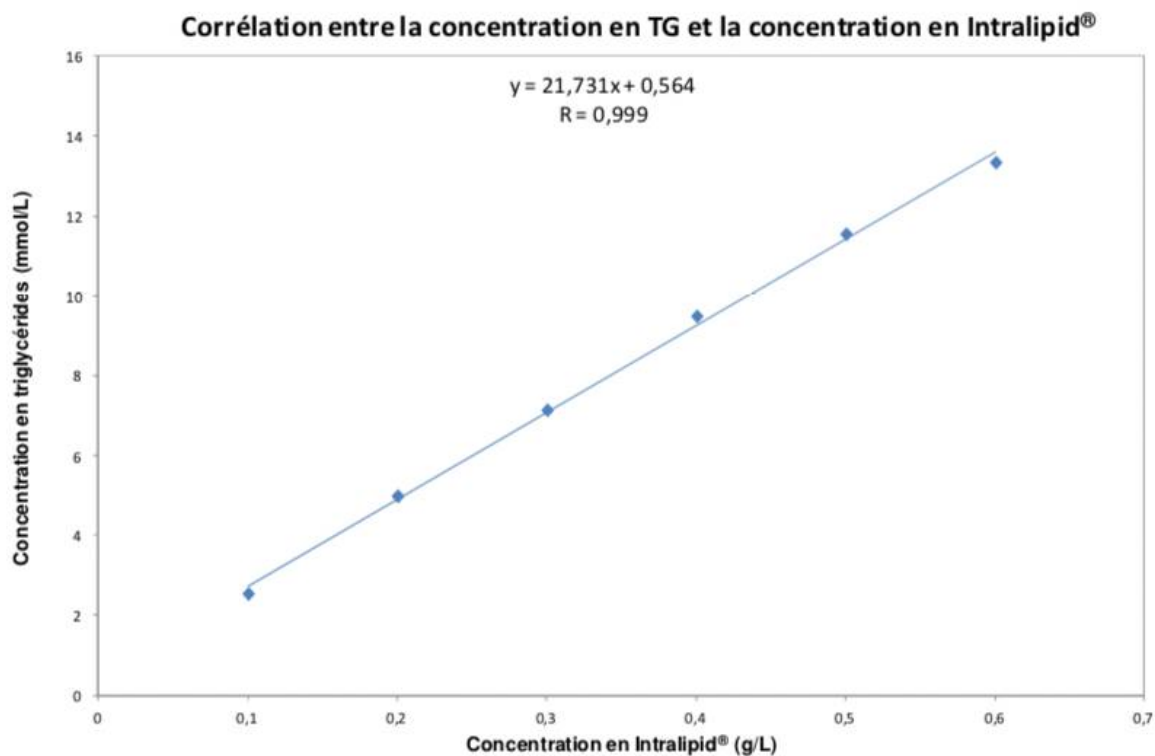


Figure 7 : Corrélation entre la concentration en Intralipid® et la concentration en triglycérides

En abscisse la concentration d’Intralipid® en mg/dL, en ordonnée la concentration mesurée de triglycérides en mmol/L (17)

La lipémie peut également interférer de manière non spécifique dans divers immunoessais. Les lipoprotéines peuvent interférer avec la réaction antigène-anticorps en bloquant les sites de liaison des anticorps. Cela peut se produire même lorsque les anticorps sont liés à une surface solide. Selon la nature de la réaction, l’interférence peut entraîner un résultat faussement élevé ou faussement bas (56).

b. Interférence spectrale

Ce mécanisme est probablement le moyen le plus courant par lequel la lipémie affecte les résultats des tests de laboratoire. Les particules de lipoprotéines présentes dans l'échantillon peuvent absorber la lumière. La quantité de lumière absorbée diminue de 300 à 700 nm, sans pic d'absorption spécifique entre les deux (64).

Par conséquent, les méthodes qui utilisent des longueurs d'onde inférieures sont plus affectées par la lipémie, car l'absorbance est la plus élevée dans cette partie du spectre. De nombreuses méthodes de chimie clinique (comme l'alanine aminotransférase, ALAT ; l'aspartate aminotransférase, ASAT ; le glucose) utilisent la réaction $\text{NAD(P)}^+ \leftrightarrow \text{NAD(P)H} + \text{H}^+$ comme réaction indicatrice pour déterminer la concentration ou l'activité de l'analyte. La modification de l'absorbance étant mesurée à 340 nm, la plupart de ces méthodes sont fortement affectées par la lipémie(56).

La direction et l'ampleur de l'interférence de la lipémie dans les méthodes spectrophotométriques dépendent de la longueur d'onde de la réaction, de la direction de la réaction (il s'agit d'une réaction indicatrice mesurant l'augmentation ou la diminution de l'absorbance) et de la mise à blanc de la méthode. Il est donc possible que la direction et l'étendue de l'interférence diffèrent lors de la comparaison de différentes méthodes pour le même paramètre. (65)

Cela a été confirmé dans une étude publiée par Nikolac et Simudic (66) qui ont étudié l'influence de la lipémie induite par l'Intralipid® sur plusieurs tests de chimie clinique en utilisant des réactifs et des plateformes analytiques de trois fabricants (Cobas® 6000 <c501> de Roche, AU680 de Beckman Coulter et

Dimension Vista System de Siemens). Pour certains des paramètres testés, la direction et l'étendue de l'interférence de la lipémie étaient similaires, par exemple, les trois fabricants n'ont montré aucune influence significative sur la concentration de CRP (protéine C-réactive) et une influence négative significative sur la mesure de la créatinine. En revanche, les résultats différaient sensiblement pour la mesure de la concentration de bilirubine. Le réactif Siemens (dialyzo-réaction) présentait un fort biais positif, le réactif Roche (DPD - dichlorophényldiazonium tétrafluoroborate) un fort biais négatif, tandis que la méthode Beckman Coulter (également DPD) n'était pratiquement pas affectée par la lipémie (66). D'autres auteurs ont également constaté des différences dans l'ampleur de l'interférence de la lipémie entre différents réactifs pour la détermination de la bilirubine (67,68). L'influence de la lipémie diffère ainsi selon les fabricants, même si la même méthodologie utilisée est la même . (69).

c. Non-homogénéité de l'échantillon

Après centrifugation, les particules se répartissent en fonction de leur densité : les chylomicrons et les particules VLDL ont une faible densité et seront donc situés en haut du tube, formant une couche distincte. Les constituants du plasma se répartissent entre les couches en fonction de leur polarité : les analytes hydrophobes se répartissent dans la phase lipidique. Par conséquent, les analytes solubles dans la phase aqueuse (petites molécules, électrolytes) ne seront pas présents dans la partie supérieure du tube.(56)

Lors de l'échantillonnage pour la mesure, la plupart des analyseurs prélèvent l'échantillon dans la partie supérieure du tube, en utilisant des capteurs pour empêcher l'aiguille de s'enfoncer trop profondément dans le tube. Cela peut entraîner une concentration faussement réduite d'électrolytes et de métabolites.

L'inverse est valable pour les substances apolaires (certains médicaments, ou les hormones stéroïdes) qui s'accumuleront dans la couche lipidique supérieure, et leur concentration sera faussement diminuée dans la partie inférieure du tube(56).

d. Effet de déplacement de volume

Ce mécanisme affecte fortement la concentration des électrolytes. Le plasma normal se compose d'environ 92 % d'eau et de 8 % de lipides. Dans l'échantillon lipémique, la proportion de la phase lipidique augmente et peut atteindre 25 %. Les analytes qui ne sont pas distribués dans la phase lipidique (c'est-à-dire les électrolytes) sont distribués dans la partie aqueuse qui ne représente plus que 75 % de l'échantillon. Les méthodes qui mesurent la concentration d'électrolytes dans le volume total du plasma (y compris la phase lipidique), comme la photométrie de flamme ou la potentiométrie indirecte, donnent une concentration d'électrolytes faussement diminuée en raison de la forte dilution avant l'analyse. En multipliant le résultat obtenu après la mesure par le volume plasmatique total, on obtient une erreur dans la concentration des électrolytes. Cet effet est observé sur des échantillons fortement lipémiques (plus de 17 mmol/L de triglycérides)(56).

La formule suivante de correction de la natrémie en fonction du taux des lipides a été proposée en cas de l'utilisation de la potentiométrie indirecte :

Fausse hyponatrémies : correction de la natrémie

Si hyper protidémie (>80g/L) ou hyperlipidémie (>30g/L) : fausses hyponatrémies par potentiométrie indirecte : formules de correction, tenir compte du vrai volume d'eau plasmatique

Natrémie corrigée = natrémie mesurée + 0,025 x protidémie

Natrémie corrigée = [natrémie mesurée /1000- (protides + lipides)] x 1000

Les méthodes qui mesurent la concentration des électrolytes uniquement dans la phase aqueuse sans dilution (potentiométrie directe), mesurent la concentration réelle et ne sont pas affectées par la lipémie. Les résultats de la mesure de la concentration des électrolytes sont similaires en utilisant la potentiométrie directe et indirecte, s'il n'y a pas de perturbation de la phase aqueuse dans l'échantillon, les différences entre les méthodes sont en corrélation avec le degré de lipémie .(56)



III. MÉTHODES DE DÉTECTION DE L'HÉMOLYSE, DE L'ICTÈRE ET DE LA LIPÉMIE DANS LES ÉCHANTILLONS SÉRIQUES ET PLASMATIQUES

A- Détection visuelle

La méthode la plus simple pour évaluer les indices sériques est l'inspection visuelle, une pratique encore courante dans les petits laboratoires cliniques et/ou ceux qui ne disposent pas d'instruments pour détecter ces interférences(28,64). Cette appréciation diffère d'un individu à un autre selon la capacité de l'individu à distinguer l'intensité des couleurs mais aussi en fonction de son expérience (12).

Pour l'hémolyse, les différences de couleur subtiles des échantillons peuvent être difficiles à distinguer, surtout si d'autres facteurs comme la lipémie sont présents. La figure 8 présente les différents aspects pouvant être observés en fonction de l'intensité de l'hémolyse



Figure 8 Aspect selon l'intensité de l'hémolyse

- A : limpide
- B : légèrement hémolysé
- C : hémolysé
- D : fortement hémolysé

Pour la lipémie, le degré de turbidité est visuellement difficile à résoudre ; au-delà d'un certain point, l'œil humain ne perçoit pas facilement les différences car le plasma/sérum apparaît simplement trouble et opaque. La mesure des triglycérides dans le plasma ou le sérum permet d'évaluer approximativement le degré de lipémie, mais la relation entre les triglycérides et la turbidité est complexe et non linéaire(56,64,73). En général, la lipémie peut être détectée visuellement si la concentration de triglycérides dans l'échantillon du patient est supérieure à 3,4 mmol/L soit 2,95/L (74).

La figure 9 présente les différents aspects pouvant être observés en fonction du degré de turbidité



Figure 9 : Aspect selon l'intensité de la lipémie

- A : limpide
- B : légèrement trouble
- C : opalescent
- D : lactescent

La détection visuelle de la lipémie dans le sérum donne des résultats très hétérogènes. Dans une étude des méthodes de détection de la lipémie, il a été découvert qu'il y a un degré modéré de concordance entre 6 techniciens de laboratoire dans la détection visuelle de la lipémie (coefficient kappa pondéré, $K = 0,70$ (IC 95 % = 0,63-0,77) (75). Les résultats pourraient même être moins bons si un plus grand nombre de membres du personnel de laboratoire est impliqué dans le processus (75).

Dans les échantillons de sang complet, la détection visuelle est très difficile et peut être observée à une concentration de triglycérides beaucoup plus élevée (plus de 11,3 mmol/L soit 9,8g/L) (74). Pour cette raison, la lipidémie de l'échantillon de sang complet reste souvent non détectée.

Pour l'ictère (figure 10), la détection visuelle est également sujette à une grande variabilité interindividuelle, surtout s'il est associé à l'hémolyse.



Figure 10 : Aspect selon l'intensité de l'ictère

- A : limpide
- B : légèrement ictérique
- C : ictérique
- D : très ictérique

B- Méthode spectrophotométrique de détection des indices d'Hémolyse, d'ictère et de lipémie HIL

1- Principe

La plupart des autoanalyseurs utilisent le même principe pour mesurer l'indice HIL. La présence éventuelle d'hémoglobine acellulaire, de turbidité ou de bilirubine peut être évaluée par une détermination spectrométrique simple, économique, rapide et directe, en utilisant des lectures multichromatiques et des équations pour compenser le chevauchement spectral potentiel de ces substances.

La figure 9 montre les spectres d'absorbance de l'hémoglobine, de la bilirubine et de la lipémie.

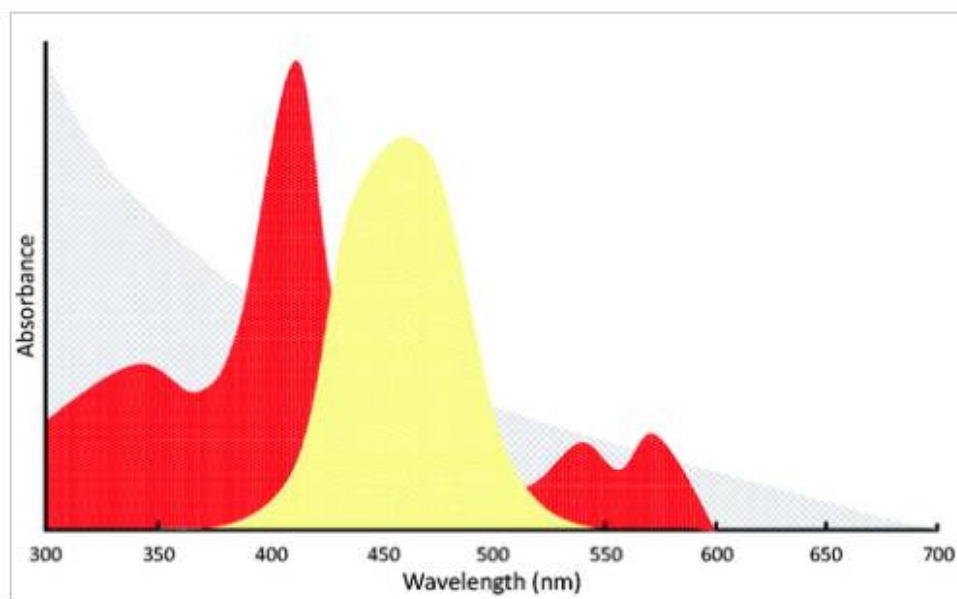


Figure 11 : Spectres visuels de l'hémoglobine, de la bilirubine et de la lipémie(76–78)

En rouge : spectre visuel de l'hémoglobine

En jaune : spectre visuel de la bilirubine

En gris : spectre visuel de la lipémie

Cependant lors de l'étude de l'interférence de l'hémolyse, selon les automates et selon les fournisseurs, peuvent varier :

- La nature de l'interférent
- Longueurs d'ondes mesurées
- Mode d'évaluation de l'interférence : taux d'hémoglobine brut, ou indice d'hémoglobine (semi-quantitative)

Pour la lipémie, elle peut généralement être mesurée sans chevauchement avec l'hémoglobine ou la bilirubine en prenant une longueur d'onde primaire de 650 nm ou plus, avec la mesure secondaire à une longueur d'onde plus grande. Les mesures de l'hémoglobine, qu'elles soient effectuées autour de 570 ou 415 nm, doivent tenir compte de la contribution de la lipémie à l'absorbance. Pour ce faire, on applique au résultat un facteur de correction basé sur la lipémie mesurée de l'échantillon. (79) . Par ailleurs, il est à noter que des résultats faussement positifs peuvent se produire en présence d'une turbidité de l'échantillon qui n'est pas due à l'accumulation de lipides, mais à d'autres molécules. Il existe plusieurs articles décrivant un indice L faussement élevé avec des valeurs lipidiques faibles dans le cas où des paraprotéines sont présentes dans l'échantillon (80,81). Ces articles soulignent même l'utilité clinique de la mesure de l'index lipidique pour détecter la protéine M chez des patients autrement asymptomatiques. En outre, un résultat faussement positif a été observé en présence d'un produit de contraste (colorant bleu patient V utilisé lors d'une chirurgie du cancer) (82). Dans ces cas de résultats cliniquement peu clairs, d'un indice lipidique inhabituellement élevé qui ne correspond pas aux caractéristiques cliniques du patient, une inspection visuelle supplémentaire de l'échantillon pourrait aider à déterminer l'origine de la turbidité. (56)

Les mesures de la bilirubine doivent utiliser des facteurs de correction pour tenir compte de la lipémie et de l'absorption de l'hémoglobine. Certains instruments prennent des mesures à plus de trois paires de longueurs d'onde pour calculer les indices sériques. Dans ces cas, les équations de correction sont plus compliquées, mais elles consistent généralement à additionner la différence de chaque paire de longueurs d'onde mesurée et à multiplier la somme par un facteur propre(83).

Il en résulte, dans tous les cas, la génération de données pour les trois indices sériques ou plasmatiques, conventionnellement définis comme l'indice d'hémolyse (I-H), l'indice lipémique (I-L) et l'indice ictérique (I-I).

2. Expression des indices HIL par les fournisseurs

Les résultats doivent être préférentiellement exprimés en concentration relative de la substance interférente (84):

- g/L d'hémoglobine pour I-H
- $\mu\text{mol/L}$ de bilirubine pour I-I
- mmol/L de triglycérides pour I-L.

Cependant, il existe encore une grande hétérogénéité entre les fabricants concernant le mode d'expression des indices d'hémolyse, d'ictère et de lipémie, le choix des différentes longueurs d'ondes (mais presque tous utilisent des combinaisons de deux ou plusieurs longueurs d'onde), les algorithmes de calcul des indices, ce qui engendre une différence dans le taux de l'interférence qui est hétérogène selon la technique employée. (85)

Un autre problème est l'absence de standardisation entre les fabricants en ce qui concerne les valeurs des indices. Certains utilisent des échelles semi-

quantitatives, tandis que d'autres sont presque entièrement qualitatives. Selon la plateforme utilisée, Beckman Coulter exprime ses résultats pour l'indice L de 0 à 5 (84), et Siemens de 1 à 6 (86), tandis qu'Abbott et Roche utilisent des échelles continues qui correspondent à la concentration d'Intralipid® utilisée dans les études de simulation. (56). Il est à noter que l'échelle semi quantitative correspond mieux à l'inspection visuelle de l'échantillon, tandis que l'échelle continue donne une meilleure corrélation entre l'intensité de l'interférence et l'effet sur le résultat mesuré. En raison de ces problèmes, bien que l'évaluation intra-laboratoire de la lipémie soit considérablement normalisée, les résultats des indices HIL ne peuvent pas être comparés entre les plateformes des différents fabricants et une harmonisation est donc nécessaire dans ce domaine. (56)

Le tableau 4 récapitule un exemple d'informations données par les fabricants de réactifs sur les indices HIL

Tableau 4: Informations des fabricants sur les indices hémolytique, ictérique et lipémique. (79)

	Longueurs d'onde mesurées (nm)						
	lipémie	hémolyse	ictère	Volume de l'échantillon µL	diluant	Volume de dilution µL	rapport
Abbott Architect	500/524; 572/604; 572/804	572/604; 628/660	500/524; 572/604; 628/660	5.3	Salin <i>a</i>	200	Semi quantitatif
Beckman Coulter AU	660/800	410/480; 600/800	480/570; 600/800	1.6/2.0	Salin	150	Semi quantitatif
Beckman Coulter DxC/Synchron	340, 410, 470, 600, 670	340, 410, 470, 600, 670	340, 410, 470, 600, 670	14	Tampon tris	200	Semi quantitatif
Ortho Vitros	700	522–750	507–776	35 <i>b</i>	Néant	0	Quantitatif
Roche Integra	659/800	583/629	480/512	5	Salin	125	Quantitatif
Roche Modular	660/700	570/600	480/505	8	Salin <i>a</i>	200	Quantitatif
Siemens Advia	658/694	571/596	478/505	5	Salin <i>a</i>	100	Semi quantitatif ou quantitatif
Siemens Dimension Vista	700	405/700	452/700	10	eau	165	Semi quantitatif

a : Le réactif I de certains tests peut également être utilisé. Les réactifs ASAT ou ALAT sont recommandés.

b :Le test ne consomme pas d'échantillon (la mesure est effectuée à l'extrémité de la sonde d'échantillonnage).

3. Contrôle interne de qualité des indices HIL

Les indices HIL doivent être validés avant d'être mis en œuvre dans les pratiques de laboratoire de routine. Les matériels commerciaux d'EEQ et de CIQ commencent seulement à être disponibles. Une directive du Clinical Laboratory Standards Institute CLSI C56-A (Hemolysis, Icterus, and Lipemia/Turbidity Indices as Indicators of Interference in Clinical Laboratory Analysis) donne des instructions détaillées sur cette pratique (87). Les contrôles internes de qualité doivent être effectués quotidiennement car ils visent principalement à identifier les erreurs aléatoires qui peuvent compromettre la qualité des tests et à la sécurité des patients, comme le reconnaît clairement la norme d'accréditation ISO 15189:2012. (88,89). En l'absence d'échantillons commerciaux, un laboratoire doit préparer ses propres normes à partir d'échantillons de patients ou d'échantillons surchargées. (56). L'utilisation de matériaux de CQ préparés en interne doit être considérée comme une perspective intéressante, car elle permettrait potentiellement d'économiser des ressources économiques et de surmonter certaines limitations inhérentes aux CQ commerciaux. (90,91)

- Sélection du matériel de CIQ :

Le contrôle interne de qualité doit comprendre au moins deux niveaux différents pour chacune des trois substances interférentes (c'est-à-dire H, L et I)

Chaque matériel CIQ doit être spécifique pour chacune des trois substances interférentes : en raison d'un chevauchement spectral important entre l'hémoglobine, la bilirubine et les triglycérides (84), les matériaux CIQ doivent être conçus pour être spécifiques à chaque substance interférente, contenant

ainsi une concentration indétectable des deux autres composés. Cela permettrait de vérifier la performance de chaque indice HIL avec plus de précision, évitant ainsi les interférences potentielles dues au chevauchement des spectres d'absorption. (83,92)

La sélection des niveaux possibles de CIQ pour les indices HIL devrait être principalement basée sur des seuils de décision pratiques, qui déclencheraient des décisions quant à savoir si l'échantillon est approprié ou non pour la publication des résultats du test.(93) Selon cette règle empirique, il semble judicieux de suggérer que le niveau de CIQ "élevé" devrait contenir une concentration de substances interférentes qui peut toujours introduire un biais cliniquement significatif dans les résultats de test, le niveau de CIQ "moyen" devrait contenir une concentration de substances interférentes très proche de la limite d'interférence cliniquement significative, tandis que le niveau de CIQ "faible" doit contenir une concentration de substances interférentes qui ne génère pas de biais analytique ou significatif dans les résultats des tests, comme expliqué en détail dans un document de consensus publié par le WG-PRE [13], en reconnaissant qu'à un même niveau, l'effet de l'interférence peut varier entre différents tests. (94)

- Préparation interne des matériaux de CIQ : la méthode des surcharges

Le pool de niveau élevé pour le I-H (c.-à-d., ~4 g/L) peut être obtenu en générant une fausse hémolyse en utilisant des moyens chimiques (en ajoutant de la saponine), mécaniques (sonication, aspiration répétée avec une aiguille de calibre < 23) ou physiques (congélation pendant la nuit à -20 °C) [29,30].

Le pool de niveau élevé pour le I-L (c'est-à-dire ~11 mmol/L) peut être obtenu en dopant de l'intralipide ou d'autres solutions contenant des lipides dans un pool de sérum ou de plasma, jusqu'à la concentration finale souhaitée de triglycérides, comme décrit ailleurs [30].

Enfin, le pool de niveau élevé pour le I-I (c'est-à-dire ~125 µmol/L) peut être préparé en regroupant du sérum ou du plasma de routine affichant une très forte concentration de bilirubine.

Les deux autres niveaux de CQI peuvent ensuite être obtenus en diluant les pools de niveau élevé avec des pools de sérum ou de plasma contenant des valeurs indétectables de tous les éléments HIL, comme le préconise également le document C56-A du CLSI. (94)

En commençant par une quantité initiale de 100 ml pour produire le niveau "élevé" de chaque indice HIL, puis en effectuant des dilutions en série 1:2 (c'est-à-dire 50 ml + 50 ml), il sera possible de générer environ 96 aliquotes de ~0,5 ml chacune plus une aliquote de 2 ml (à utiliser pour fixer les objectifs de performance). Cela permettra un contrôle interne de la performance HIL pendant environ 48 jours ouvrables (en effectuant le contrôle interne deux fois par jour).

Bien que la préparation des matériaux de CQ I-H et I-L semble relativement simple et directe, la préparation des matériaux de CQ pour le I-I nécessite l'identification d'un grand nombre d'échantillons ictériques. Cela ne serait pas facile dans certains laboratoires, de sorte qu'une autre procédure peut être utilisée, qui reflète globalement celle décrite pour le I-L. En bref, un pool d'échantillons de sérum ou de plasma peut être préparé, puis un stock de bilirubine exogène (préalablement dissous dans du NaOH 0,2 N) peut être ajouté au pool de plasma ou de sérum, pour atteindre une concentration finale de bilirubine totale de ~125 µmol/L, comme décrit ailleurs. (95)

Toutes ces procédures sont alignées sur celles suggérées par le document C56- A du CLSI (76). Notamment, les différentes formes moléculaires de la bilirubine peuvent générer des interférences hétérogènes en utilisant divers essais de laboratoire, tandis que les formes moléculaires de la bilirubine peuvent également produire un biais différent en utilisant une méthode identique sur différents instruments. La grande majorité des études d'interférence ont été réalisées par des entreprises commerciales en utilisant des stocks commerciaux de bilirubine non conjuguée, ce qui peut donc ne pas reproduire directement le biais possible dû à la bilirubine totale élevée dans le sérum ou le plasma (96). Les produits commerciaux contenant les deux formes (c'est-à-dire conjuguée et non conjuguée) sont disponibles sur le marché et sont donc préférables pour réaliser des études d'interférence. (94)

Les seuils proposés dans ce document sont purement indicatifs, bien qu'ils aient été adoptés à partir des données de la littérature scientifique disponible (64,97) et du document C56-A du CLSI (76). Par conséquent, les laboratoires peuvent ajuster leurs niveaux de CIQ internes en fonction des seuils d'interférence adaptés à l'instrumentation locale, aux réactifs et aux tests effectués. Il est important de noter que l'ensemble de la procédure doit être repris lorsque le nombre d'aliquotes restants est proche de 10. Cela laisse suffisamment de temps pour préparer un nouveau matériel CIQ interne qui sera testé lorsque le premier matériel sera épuisé. (94)

- Recommandations sur stockage et l'utilisation des échantillons de CIQ :

- Les pools devraient être divisés en aliquotes identiques de ~0.5 mL, dans des gobelets en plastique bouchés, plus une aliquote de plus grand volume (~2 mL) qui sera utilisée pour établir les objectifs de performance des CIQ.
- -Tous les bouchons en plastique doivent être étiquetés de manière non équivoque afin d'éviter les erreurs de correspondance.
- Placer les aliquotes dans une boîte, à l'abri de la lumière et étiquetée avec le type de flacons contenus et la date de préparation
-Les aliquotes peuvent être conservées à -20 °C (ou -80 °C) pendant 6 mois. -Avant l'utilisation quotidienne, les aliquotes doivent être décongelées à température ambiante ou à 37 °C pendant au moins 30 minutes.
- Les aliquotes doivent être mélangées avec précision à l'aide d'un vortex avant d'être utilisées.(94)

- Recommandations pour l'évaluation des CIQ :

- Les tests de CIQ doivent toujours être effectués pour valider la performance des indices HIL dans des conditions de routine et d'urgence.
- Les CIQ doivent être effectués au moins deux fois par jour, conformément aux réglementations et protocoles locaux idéalement avant de commencer la session d'analyse du matin et 8 à 12 heures plus tard (ou à la fin de la session d'analyse pour les laboratoires qui ne travaillent pas sur place).(94).

- Contrairement à la mesure des CIQ pour d'autres types de tests de diagnostic, l'évaluation des indices HIL n'implique pas l'utilisation d'étalonnage ou de réactifs spécifiques.
- Tous les résultats quotidiens des indices HIL doivent être enregistrés et stockés avec précision, en particulier si ces tests sont inclus dans l'accréditation ISO 15189:2012. (88)

- Objectifs de performance des CIQ :

-Selon la Conférence stratégique de Milan, les objectifs de performance pour les phases extra-analytiques devraient en principe être basés sur les mêmes modèles que pour la phase analytique. Par conséquent, les objectifs de performance des indices HIL doivent être estimés en utilisant les données des indices HIL collectées avec 20 mesures consécutives en une seule fois le même jour pour chaque aliquote de CIQ HIL congelé et décongelé. L'utilisation d'aliquotes congelés-décongelés pour fixer les objectifs de CIQ (c'est-à-dire l'aliquote de 2 ml) peut être préférable, car la congélation initiale peut générer un biais dans les valeurs mesurées des indices HIL. (94)

-Les tests permettant de fixer des objectifs de performance peuvent alors être effectués après 24 heures de congélation. Des statistiques spécifiques doivent alors être réalisées, notamment le calcul de la valeur moyenne et de son écart-type (ET). Avant d'effectuer ces calculs, il faut vérifier que les données présentent une distribution normale (ou gaussienne). En cas de données asymétriques, il peut être nécessaire de les corriger en utilisant des méthodes de transformation logarithmique, Box-Cox ou autres. Les valeurs aberrantes peuvent être identifiées et éliminées à l'aide des tests correspondants (par exemple, le test de Grubbs). Cependant, il doit rester au total au moins 20 mesures valides pour le calcul des limites cibles. (94)

--Le CIQ des indices HIL doit être intégré dans la pratique de routine du laboratoire pour le contrôle du CIQ, c'est-à-dire par la représentation graphique des données sur des cartes de contrôle Levey-Jennings ou similaires.

Les résultats sont inacceptables lorsqu'une seule valeur des matériaux DE CIQ dépasse de ± 3 ET sa valeur cible moyenne (violation de la règle de Westgard 13S). D'autres règles de Westgard peuvent être appliquées pour une surveillance continue et une action opportune en cas de dégradation des mesures IQC (par exemple, règle 1_{2S} , règle 2_{2S} , 1_{3S} , R_{4S} , ..., etc).(98)

Comme l'a approuvé le CLSI, l'objectif de performance possible pour les indices HIL peut être défini en utilisant la règle 13S (c'est-à-dire que les résultats seront inacceptables lorsqu'une seule donnée de CIQ est supérieure à 3 SD par rapport à la valeur cible moyenne). Lorsque les résultats de l'un des matériaux de CIQ utilisés pour contrôler la performance des indices HIL sont supérieurs à 3 SD par rapport à leur valeur cible moyenne, les résultats générés par cet indice sérique spécifique sont donc inacceptables et ne doivent pas être pris en compte pour décider si l'échantillon peut être testé ou non. (94). La décision d'utiliser la règle du 13S est soutenue par la preuve que les résultats des indices HIL générés par certains analyseurs commerciaux sont basés sur des échelles étroites et semi-quantitatives (c'est-à-dire 5 à 6 points), de sorte que le calcul de l'écart-type peut être difficile. Une approche de substitution peut consister à définir des spécifications de qualité en fonction du résultat clinique, de la variation

=

Gestion des données de CIQ inacceptables

Lorsque les résultats des indices HIL n'atteignent pas les objectifs de performance fixés, la procédure à suivre reflète étroitement celle de la gestion conventionnelle des CIQ en laboratoire. (99)

Par conséquent, une autre aliquote (ou plus d'une aliquote selon le nombre d'échecs des CIQ) doit être décongelée et retestée, afin d'exclure toute détérioration potentielle du matériel de CQ. Lorsque la seconde analyse du ou des CIQ est acceptable, les tests réguliers peuvent être repris. Néanmoins, lorsque la seconde analyse du ou des CIQ n'atteint toujours pas les objectifs de performance, la cause possible peut être une défaillance de l'analyseur plutôt qu'une détérioration des matériaux CQ. Par conséquent, les tests HIL doivent être immédiatement arrêtés et le dépannage doit être initié. En attendant, puisque le contrôle de la qualité des échantillons est pratiquement inévitable pour générer des données de laboratoire fiables, l'évaluation automatique des tests HIL doit être remplacée par une inspection visuelle, en comparant l'apparence de l'échantillon avec un point de référence fiable. Celui-ci est généralement représenté par des photos couleur, reproduisant des échantillons de sérum ou de plasma contenant des quantités croissantes de substances interférentes. Les photos peuvent être prises localement ou celles reproduites dans le document C56-A du CLSI peuvent être imprimées. (76)

Il est important de noter que toutes les données des indices HIL remontant au dernier CIQ valide déjà publié doivent être réévaluées ou corrigées, en particulier si elles ont déjà été incluses dans le rapport du laboratoire.

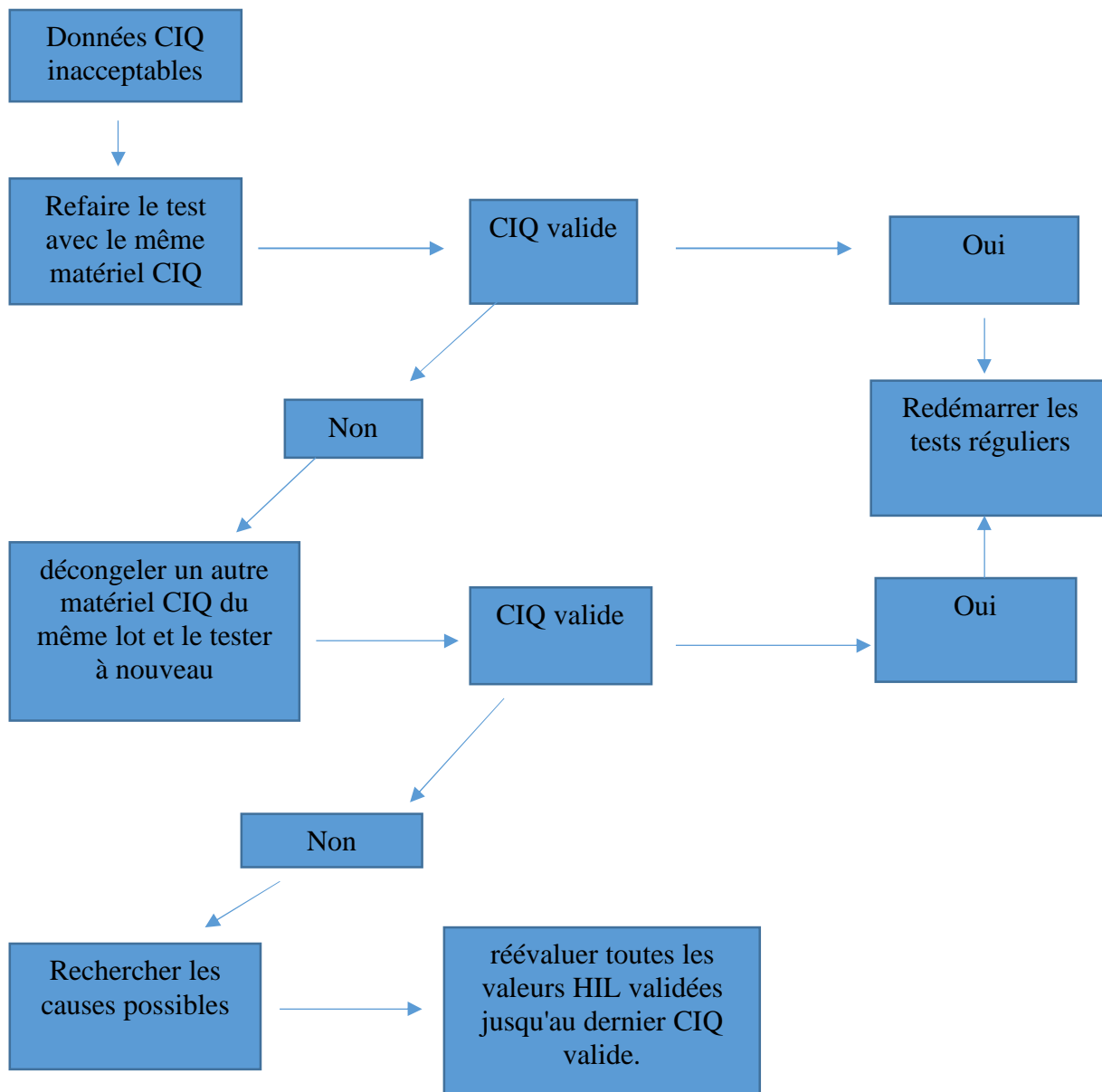


Figure 12 : procédure de gestion du contrôle interne de la qualité CIQ pour les indices HIL (94)



*Vérification
des interférences
liées à l'hémolyse, à l'ictère
et à la lipémie*

IV. VÉRIFICATION DES INTERFÉRENCES LIÉES À L'HÉMOLYSE, À L'ICTÈRE ET À LA LIPÉMIE

La vérification de la sensibilité des systèmes analytiques aux interférences HIL fait partie du dossier de vérification / validation exigée par la norme ISO 15189. Cette vérification est bibliographique en général mais peut être effectuée par le laboratoire en cas d'absence ou d'insuffisance des données des fournisseurs. En cas de vérification sur site, l'utilisation d'un protocole rationnel et standardisé permet de simplifier et d'optimiser le travail d'évaluation, d'uniformiser la présentation des données et de permettre un jugement comparatif des résultats obtenus par des différents évaluateurs.

A- Recommandations CLSI

Les recommandations du CLSI préconisent afin de tester les potentielles interférences :

- De l'hémoglobine : l'utilisation d'une concentration maximale de 2g /L d'hémoglobine (soit 312 $\mu\text{mol/L}$). Ces recommandations préconisent la préparation de l'hémolysât par choc osmotique
- De la lipémie : de surcharger les échantillons avec une solution d'Intralipid^R et de tester une concentration maximale de 1000 mg/dl d'Intralipid^R. L'Intralipid^R est une solution de nutrition parentérale qui contient principalement des petits liposomes relativement denses et riches en phospholipides ainsi que des chylomicrons enrichis artificiellement en triglycérides.
- De l'ictère : l'utilisation de ditaurate de bilirubine (bilirubine conjuguée) à concentration maximale de 342 $\mu\text{mol/L}$ (20 mg/dL)

B- Protocole Valtec (100) :

En 1986, un protocole de validation de techniques a été suggéré par la SFBC fournissant des normes d'acceptabilité définies pour plusieurs analytes.

Protocole expérimental :

- Un spécimen de concentration connue de l'analyte à doser (niveau moyen) est surchargé par une solution concentrée de la substance susceptible d'interférer pour obtenir plusieurs niveaux de concentration.
- Pour l'étude de l'influence de l'hémolyse : Une solution d'hémoglobine est préparée à partir d'hématies lavées, hémolysées et diluées afin d'obtenir une concentration d'environ 50g/L soit 3 mmol/L d'hémoglobine. On effectue les surcharges du spécimen incluant l'analyte étudié (pool) par dilution selon les indications du tableau suivant :

Tableau 5 : solutions surchargées avec un hémolysat

Tube N°	1	2	3	4	5	6	7
Pool (µL)	900	900	900	900	900	900	900
Hémolysat (µL)	0	5	10	20	40	60	80
NaCl 150 mmol/L (µL)	100	95	90	80	60	40	20
Taux de surcharge en hémoglobine (µmol/L) / (mg/dL) *	0	15 24,17	30 48,34	60 96,68	120 193,37	180 290	240 386,74

*À vérifier par dosage

- Pour l'étude de l'influence de la bilirubine : À partir d'une solution de bilirubine de 5,1 mmol/L préparée par 30 mg de bilirubine, 2,5 ml de NaOH à 0,1 mmol/L et 7,5 ml d'eau distillée, on réalise des dilutions comme indiquées dans le tableau suivant :

Tableau 6: solutions surchargées avec de la bilirubine

tube n°	1	2	3	4	5	6	7
Pool (µL)	900	900	900	900	900	900	900
Solution de bilirubine (µL)	0	5	10	20	50	75	100
NaCl 150 mmol/L (µL)	100	95	90	80	50	25	0
Surcharge de bilirubine (µmol/L) / (mg/dL) *	0	25 1,47	50 2,94	100 5,88	250 14,70	375 22,06	500 29,41

*À vérifier par dosage

- Pour l'étude de l'influence de la lipémie : on dilue au 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 une solution d'Intralipid^R à 20%, puis on prépare les solutions comme indiqué dans le tableau suivant :

Tableau 7: solutions surchargées avec de l'Intralipid^R

Tube n°	1	2	3	4	5
Dilution Intralipid ^R	/	1/80	1/40	1/20	1/10
Volume (µL)	/	100	100	100	100
NaCl 150 mmol/L	100	/	/	/	/
Pool de sérum ou plasma (µL)	900	900	900	900	900
Aspect	Clair	Opalescent	Lactescent	Lactescent	Lactescent
Équivalent triglycérides (mmol/L) / (mg/dL) *	2,00 176,99	3,00 265,48	4,60 407,08	5,00 442,47	7,00 619,46
Absorbance à 600 nm	0,020	0,040	0,080	0,120	0,240

*À vérifier par dosage

Les dosages sont effectués en double pour chacune des dilutions préparées. La valeur moyenne observée pour le spécimen non surchargé est soustraite de la valeur moyenne observée pour chaque spécimen. Les différences observées (négatives ou positives) sont reportées sur un graphe en fonction de la substance susceptible d'interférer et comparées aux limites acceptables correspondant à la norme d'interprétation du protocole de validation de technique.

C- Protocole EFLM

L'évaluation de l'interférence HIL implique l'utilisation d'un protocole expérimental qui reproduit au mieux les effets de l'interférence tels qu'ils se produisent dans les échantillons de patients et l'interprétation des résultats en fonction de critères rationnels(79).

Deux modèles expérimentaux de base sont utilisés pour évaluer l'interférence HIL. La substance potentiellement interférente peut être introduite dans les échantillons et les résultats sont comparés aux échantillons non introduits. On peut également obtenir des échantillons de patients contenant la substance interférente et comparer les résultats de l'essai évalué avec ceux d'un essai hautement spécifique non susceptible d'interférence(79). Cette dernière approche présente l'avantage de montrer les effets de l'interférence tels qu'ils se produisent dans les échantillons de patients. Cependant, cette conception est moins couramment utilisée en raison de la nécessité d'identifier de nombreux échantillons de patients présentant un large éventail d'hémolyses, d'ictères et de lipémies, et de la nécessité d'une procédure de mesure hautement spécifique(79). Un certain nombre de considérations doivent être prises en compte lors de la planification des tests d'interférence HIL utilisant des protocoles basés sur l'introduction de l'interférent. Au total, un échantillon contenant une

concentration prédéfinie de la substance à doser est surchargé par une solution concentrée en substance interférente afin d'obtenir un gradient de concentrations. (100) Dans le cas d'une hémolyse, il est important d'ajouter le contenu des GR aux échantillons plutôt que simplement l'hémoglobine (101).

a. Préparation de l'hémolysat et surcharge en hémoglobine :

Les hémolysats peuvent être préparés en soumettant le sang total à un traumatisme mécanique, à un choc osmotique ou à la congélation. L'utilisation d'un traumatisme mécanique, qui peut être réalisé en faisant passer un échantillon plusieurs fois à travers une aiguille de calibre fin, imitera le plus fidèlement le mécanisme de la plupart des cas d'hémolyse ex vivo(101). Un inconvénient de cette technique est la difficulté de produire les augmentations souhaitées de l'indice hémolytique. Le choc osmotique des GR lavés, suivi de la congélation, est la procédure recommandée par le CLSI(19).

- Le matériau utilisé pour étudier l'indice d'hémolyse I-H peut être préparé en interne en hémolysant des échantillons de sang total anticoagulés avec du lithium-héparine (LH) ou de l'acide éthylènediamine-tétraacétique (EDTA)
- Préparer un pool de 200 ml en utilisant des échantillons de sang total anticoagulés avec de la LH ou de l'EDTA.
- -Générer une fausse hémolyse du pool de sang total par des moyens chimiques, mécaniques ou physiques.
- -Centrifuger le mélange pour obtenir du plasma EDTA, comme dans les procédures de laboratoire habituelles (par exemple, 10 minutes à 1500-2000 ×g à température ambiante).

- Mesurer I-H dans le pool hémolysé et le diluer avec du sérum ou du plasma présentant des valeurs pratiquement indétectables de tous les indices HIL, jusqu'à une concentration finale d'hémoglobine d'environ 4 g/l.
- Effectuer des dilutions sérielles 1:2 du mélange avec du plasma présentant des valeurs pratiquement indétectables de tous les indices HIL.
- Les niveaux possiblement élevés, moyens et faibles de l'indice H sont respectivement de 4,0 g/l, 0,5 g/l et 0,125 g/l. (94)

b. Surcharge en bilirubine :

- Le matériau utilisé pour étudier l'indice ictérique I-I peut être préparé en interne en regroupant des échantillons de sérum ou de plasma à forte concentration de bilirubine endogène.
- Préparer un pool de 100 ml en utilisant des échantillons de sérum ou de plasma avec une concentration de bilirubine supérieure à $> 125 \mu\text{mol/L}$ (c'est-à-dire 7,3 mg/dL).
- Mesurer I-I dans le pool et le diluer avec du sérum ou du plasma présentant des valeurs pratiquement indétectables de tous les indices HIL, jusqu'à une concentration finale de bilirubine de $\sim 125 \mu\text{mol/L}$ (c'est-à-dire, 7,3 mg/dL)
- Effectuer des dilutions sérielles 1:2 du pool avec du sérum ou du plasma contenant des valeurs pratiquement indétectables de tous les indices HIL

- Les niveaux élevés, moyens et faibles possibles de l'indice I sont de 125 μ mol/L (soit 7,3mg/dL), 37 μ mol/L (2,2mg/dL) et 4 μ mol/L (0,2 mg/dL), respectivement. (94)

Cependant, il est important de tester l'interférence des deux formes de bilirubine, non conjuguée et conjuguée. Certains tests ont montré une interférence avec l'une de ces formes, mais pas avec l'autre(50); d'autres tests ont montré une interférence positive avec une forme et une interférence négative avec l'autre(79).

Les études d'interférence sont généralement réalisées en utilisant la ditaurobilirubine comme alternative stable aux formes de bilirubine conjuguées monoglucuronide et diglucuronide trouvées in vivo. Cependant, des inquiétudes ont été soulevées quant au fait que la ditaurobilirubine ne produise pas toujours les mêmes effets d'interférence que les formes conjuguées glucuronide(76).

c. Surcharge en intralipide

- Le matériau utilisé pour étudier l'indice lipémique I-L peut être préparé en interne en dopant un pool d'échantillons de sérum ou de plasma de routine avec avec de l'Intralipid® ou d'autres solutions contenant des lipides.
- Préparer un mélange de 100 ml à partir d'échantillons de sérum ou de plasma, en fonction de leur teneur respective en triglycérides.
- Mesurer le I-L dans le pool et ajouter de l'Intralipid®, jusqu'à une concentration finale de triglycérides de ~11mmol/L (c'est-à-dire 973 mg/dL)

- Effectuer des dilutions en série 1:2 du pool avec du sérum ou du plasma présentant une concentration pratiquement indétectable de tous les indices HIL.
- Les niveaux élevés, moyens et bas possibles de l'indice lipémique sont de 11 mmol/L (c'est-à-dire 973 mg/dL), 2,8 mmol/L (c'est-à-dire 248 mg/dL) et 0,3 mmol/L (c'est-à-dire 27 mg/dL). (94)

L'utilisation de l'Intralipid® présente des limites. Il est composé de liposomes riches en phospholipides et de chylomicrons artificiels riches en triglycérides d'une taille de 200 à 600 nm (345 nm en moyenne)(102). Par conséquent, les particules d'Intralipid® sont plus grosses que les particules de VLDL et ont une gamme de tailles plus réduite que les chylomicrons. De plus, l'indice de réfraction de l'Intralipid® diffère de celui des particules de lipoprotéines(102). Par conséquent, les échantillons dopés à l'Intralipid® peuvent ne pas présenter les mêmes effets que les échantillons de patients lipémiques. En effet, certaines études ont montré que les échantillons de patients lipémiques, mais pas les échantillons enrichis en Intralipid®, ont montré une interférence négative pour la céruloplasmine, la créatinine, l'haptoglobine et la préalbumine(103,104).

D- Choix du seuil ou limite d'interférence

SH GTA 01 5.5.3 : « Les éléments concernant les interférences peuvent être apportés par les fiches fournisseurs, une étude critique bibliographique ou/et par une étude expérimentale »

Les indices ou seuils limites sont définis pour un paramètre, comme les plus hautes concentrations en hémoglobine, en Intralipid ou en bilirubine pouvant être ajoutées à un échantillon plasmatique ou sérique limpide sans en modifier le résultat du dosage. Il n'existe pas de consensus sur le moyen de détermination des seuils à partir desquels un résultat est considéré comme erroné. Une interférence est généralement exprimée par le fournisseur comme un biais pour une concentration donnée d'interférent (Intralipid, hémoglobine ou bilirubine dans le cas du HIL) et/ou une concentration donnée d'analyte. En général, un biais supérieur à +/-10% est jugé comme significatif (normes américaines). La plupart des laboratoires(95%) s'appuient sur ces valeurs de biais fournisseur pour maîtriser les interférences de l'hémolyse (105) . C'est pourquoi le CLSI a publié en 2012 des recommandations à l'attention des fournisseurs : ainsi, une fiche technique doit mentionner les concentrations d'hémoglobine étudiées (qui doivent aller jusqu'à 1000 mg/dl), et il faut étudier au moins deux concentrations différentes d'analyte (76). Une étude a été réalisée pour évaluer la conformité de l'industrie à ces directives (106) et a révélée l'absence de respect de ces recommandations. Ainsi, aucune information sur le biais et les valeurs d'hémoglobine pour certains analytes (remplacés par une consigne insistant à éviter les prélèvements hémolysés), test allant jusqu'à 1000 mg/dl chez un seul prestataire sur 7, tests rarement effectués sur 2 niveaux distincts d'analyte...

Plusieurs approches différentes ont été adoptées pour établir des critères plus spécifiques pour définir qu'une interférence est significative si elle excède :

- Une variation de 10% est observée (normes américaines, CLIA)
- La précision selon Westgard, Ricos : $1.96 \times 0.5 \times CV_i$ avec CV_i variation biologique intra individuelle.
- La précision analytique : $2.77 \times CV_a$
- L'erreur totale acceptable (TEa) : $0,25(CV_a^2 + CV_g^2)^{1/2} + 1,65(0,50 CV_w)$ où CV_a est la variation analytique, CV_g la variation biologique inter individuelle et CV_w la variation biologique intra individuelle
- la limite d'interférence (LI) selon la norme ISO 5725 : $z \times \sqrt{2} \times CV_a$ avec $z = 1,96$ pour une probabilité bidirectionnelle de 95 % [12].
- L'équation $I < 1,96 \times (CVA^2 + CVI^2)^{1/2}$ spécifie que l'interférence (I) est inférieure à la partie centrale de 95% de la variation du résultat causée par la variation analytique (CVA) et la variation biologique intra-individuelle (CVI)(83,107)
- L'équation $I < 0,375 \times (CVI^2 + CVG^2)^{1/2}$, où CVG est la variation biologique interindividuelle(79). Cette équation a été dérivée en utilisant des statistiques gaussiennes considérant la proportion d'une population avec des résultats en dehors de l'intervalle de référence (idéalement 5%). Elle identifie une interférence comme significative si elle augmente la proportion de résultats anormaux à 6,7% ou plus(108)
- L'équation TCL (total change limit) $I < [(2,77 CV_a)^2 + (0,5 CV_w)^2]^{1/2}$

(CVa) : la variabilité analytique qui correspond au CV de reproductibilité (exprimé en %), selon les données de la SFBC et choisi pour le niveau moyen d'analyte. (109)

Dans un objectif d'harmonisation des pratiques, les recommandations du groupe de travail sur la phase pré-analytique de l'EFLM, préconisent deux seuils(93) :

- **ACL (Analytical Change Limit)**, permet de définir si la variation est significative sur le plan analytique: ce score est donc basé sur la variation analytique CVa. $ACL = \sqrt{2} \times 1.96 \times CVa$
- **RCV (Reference Change Value)**, est utilisé pour définir si la variation est cliniquement importante (110). $RCV = 2.77 \times \sqrt{(CVa^2 + CVi^2)}$

Le RCV dépend donc de la variation analytique CVa, mais également de la variation intra-individuelle CVi : celle-ci représente la variation aléatoire d'un analyte par rapport à un point homéostatique de base, sous l'influence de l'âge, le rythme circadien, la situation pathologique et bien sur le sexe. Cette variation est connue pour divers paramètres. (111)

L'EFLM fournis des recommandations pour la prise en charge des échantillons hémolysés du fait de la fréquence quotidienne de cette interférence(112) :

- Analytiquement important formulé en ACL
- Biais cliniquement important formulé en RCV

Par conséquent, lorsque la variation due à l'hémolyse (V) est (112):

- $V < ACL$: absence d'interférence, résultat retourné sans commentaire
- $ACL < V < RCV$: interférence mais absence de répercussion clinique, résultat rendu avec commentaire indiquant le sens de l'interférence
- $V > RCV$: interférence significative sur le plan clinique, résultat non retourné et remplacement par un commentaire

Sur le plan graphique, ces recommandations concernant la gestion des interférences liés à l'hémolyse peuvent être décrites comme dans la figure suivante. (112)



Figure 13 : Représentation graphique des recommandations de l'EFLM concernant le traitement des interférences liées à l'hémolyse (112)

E- Gestion des échantillons soumis aux interférences HIL

Face à une interférence analytique, il faut être capable de répondre aux questions suivantes : pourquoi l'échantillon a été collecté ? Un report du rendu du résultat est-il dommageable pour la prise en charge du patient ? Est-il facile d'obtenir un nouvel échantillon ? Les résultats rendus ont-ils à être précis pour prendre une décision clinique ? Quelle est l'erreur totale pouvant être acceptée avant que le résultat soit inutile et dangereux en termes de prise de décision ? (56) Il est souhaitable de privilégier, dans la mesure du possible, le rendu des résultats accompagnés d'un commentaire explicatif. Pour certains auteurs (57), une suppression du résultat accompagnée d'un appel téléphonique pour déterminer la cause de l'hémolyse et demander un nouveau prélèvement reste la conduite la plus sûre. Une harmonisation des pratiques paraît encore compliquée, ce qui est dommageable à l'heure des objectifs analytiques et autres normes d'acceptabilité. (57)

1. Gestion des échantillons hémolysés : recommandations du groupe de travail de la Fédération Européenne de Chimie Clinique et de Médecine de Laboratoire (EFLM, WG-PRE) sur la phase préanalytique

Le groupe de travail de la fédération européenne de chimie clinique et de médecine de laboratoire (EFLM) pour la phase préanalytique propose des recommandations pratiques pour la gestion des échantillons hémolysés dans les tests de chimie clinique. Les recommandations sont les suivantes :

- **Évaluation systématique des indices sériques**

- **Définition des seuils de l'indice d'hémolyse (indice H) pour signaler, alerter ou supprimer les résultats des tests**
- **Communication des résultats des tests marqués ou alarmants (93):**
 - Les résultats de tests mesurés dans des échantillons où les valeurs d'indice H sont associées à un biais se situant entre les seuils analytiquement et cliniquement significatifs doivent être signalés aux cliniciens demandeurs.
 - Si le résultat d'un test est rapporté à partir d'un échantillon hémolysé (qu'il soit ou non dans la plage de référence), le rapport de laboratoire doit être accompagné d'un commentaire indiquant : "Valeur éventuellement diminuée/augmentée par l'hémolyse. Envisager de prélever un autre échantillon".
 - Si le résultat du test est rapporté à partir d'un échantillon hémolysé (qu'il soit ou non dans l'intervalle de référence), un commentaire peut être placé immédiatement sous la valeur numérique, ou ajouté sous forme de note à la fin du rapport de laboratoire. 3.4 Les commentaires doivent toujours fournir une indication claire de la direction dans laquelle le résultat du test est potentiellement biaisé (c'est-à-dire augmenté ou diminué).
- **Suppression des résultats des tests sensibles à l'hémolyse(93) :**
 - Les résultats des tests sensibles à l'hémolyse mesurés dans des échantillons où les valeurs de l'indice H sont associées à un biais dépassant les seuils cliniquement significatifs calculés selon la VRC spécifique au test doivent être supprimés.

- Au lieu d'un résultat, un commentaire doit être ajouté au rapport d'essai, indiquant : "Hémolyse dépassant les spécifications de qualité du test. Envisager de prélever un autre échantillon".
- Les résultats des tests mesurés sur des échantillons, pour lesquels les valeurs de l'indice H ne sont pas associées à un biais dépassant les seuils cliniquement significatifs, doivent être communiqués au clinicien demandeur (comme déjà défini en 3).
- **Suppression de tous les résultats des tests (93):**
 - Dans les échantillons contenant >10 g/L d'hémoglobine acellulaire, tous les résultats des tests de chimie clinique doivent être supprimés et un autre échantillon doit être demandé.
 - Si les résultats des tests effectués sur un échantillon grossièrement hémolysé (>10 g/L d'hémoglobine acellulaire) sont supprimés, le rapport de laboratoire doit être accompagné d'un commentaire indiquant : "Échantillon hémolysé. Envisager de prélever un autre échantillon".
- **Correction des données pour l'indice H (93) :**
 - L'utilisation de formules correctives pour ajuster les résultats des tests sensibles à l'hémolyse à partir de la concentration sérique ou plasmatique d'hémoglobine acellulaire est inexacte et trompeuse, et est fortement déconseillée.
- **Inclusion des données de l'indice H dans le rapport de laboratoire (93):**
 - Le degré d'hémolyse doit être converti des unités arbitraires propres à l'instrument en g/L d'hémoglobine acellulaire pour améliorer l'harmonisation.
 - Le degré d'hémolyse (exprimé en g/L d'hémoglobine acellulaire) doit être indiqué dans le rapport d'analyse du laboratoire.

- Les laboratoires cliniques doivent utiliser des matériaux de contrôle spécifiques pour les indices H afin de surveiller en permanence la performance analytique de l'indice H.

La figure suivante résume les recommandations du groupe de travail phase préanalytique de la fédération européenne de chimie clinique et de Médecine de laboratoire pour la gestion de l'hémolyse dans les échantillons biologiques :

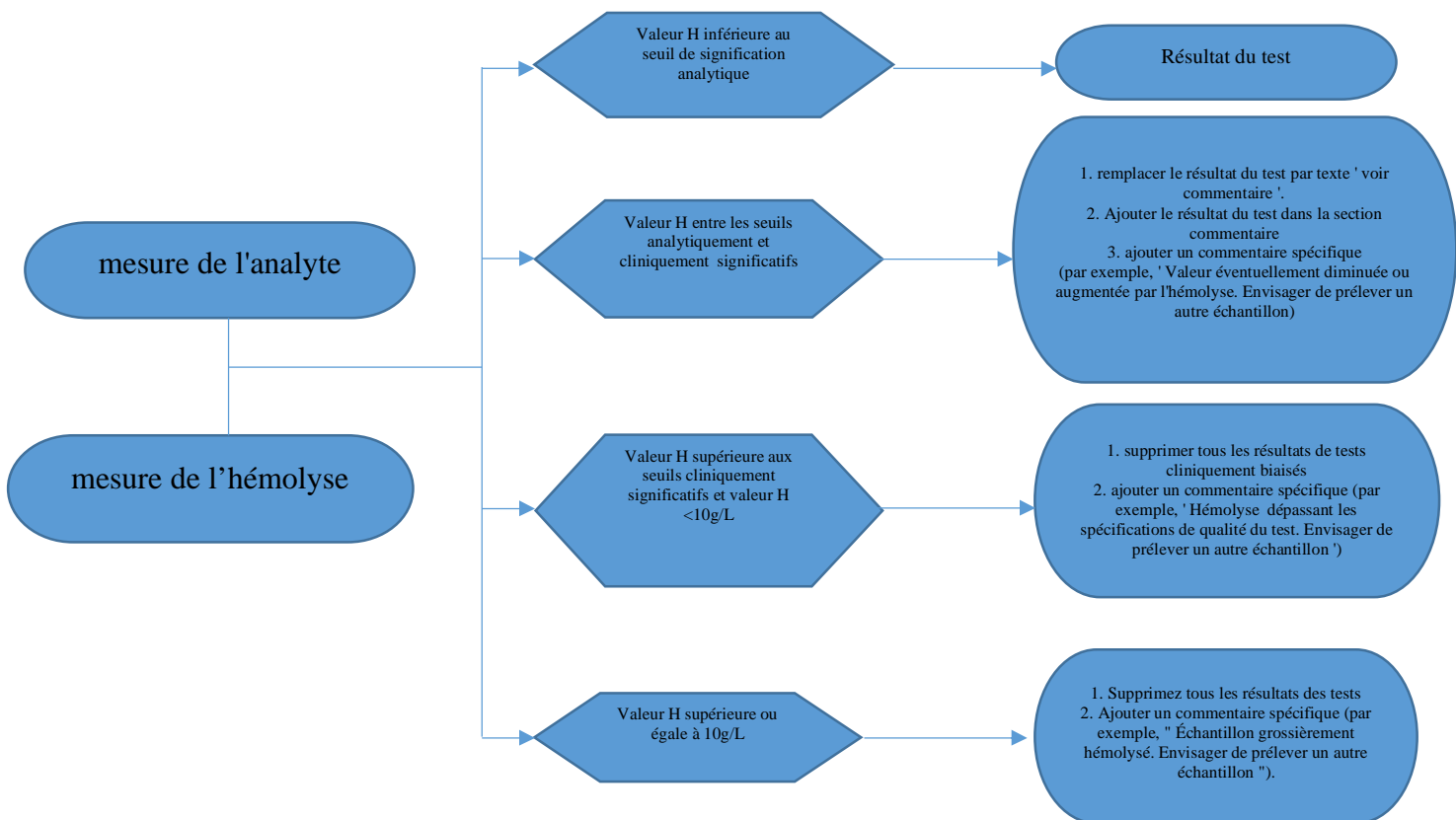


Figure 14 : résumé des recommandations pratiques pour la gestion des spécimens hémolysés pour les tests de chimie clinique. (93)

La figure suivante présente un exemple de stratégie de gestion de la kaliémie sur différents échantillons hémolysés : (93)

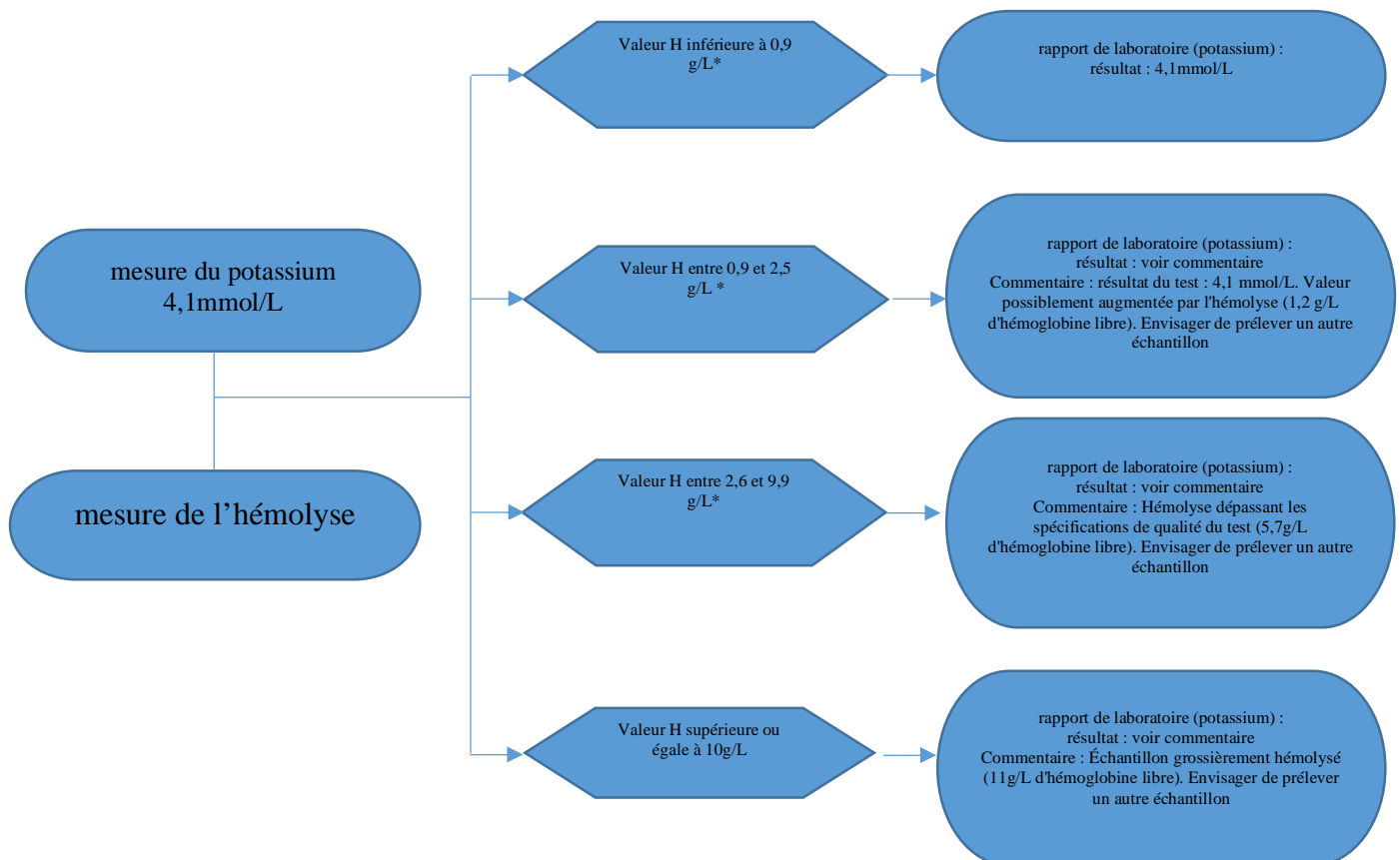


Figure 15 : application de la stratégie suggérée pour gérer les résultats de potassium obtenus dans des échantillons hémolysés. (93)

**Les valeurs seuils sont fictives et doivent être calculées pour chaque paramètre individuel de l'instrument et du test utilisé.*

2. Gestion des échantillons lipémiques :

Dans la plupart des cas, la lipémie peut être éliminée de l'échantillon et la mesure peut être effectuée dans un échantillon clair sans interférences. Il existe plusieurs façons d'éliminer les lipides, et les experts de laboratoire doivent choisir soigneusement celle à utiliser en fonction des tests qui doivent être mesurés dans l'échantillon. (56)

Centrifugation

Une procédure recommandée pour traiter les échantillons lipémiques est la centrifugation à l'aide d'une ultracentrifugeuse qui élimine efficacement les lipides et permet de mesurer un grand nombre d'analytes (76,113). Cependant, en raison de son coût élevé, cet équipement n'est pas disponible dans un grand nombre de laboratoires. L'ultracentrifugeuse peut obtenir des forces allant jusqu'à $100\ 000-2\ 000\ 000 \times g$. Dans son article récemment publié, Dimeski et al. ont prouvé que la centrifugeuse à grande vitesse avec une force de $10\ 000 \times g$ peut être presque aussi efficace que l'ultracentrifugeuse pour éliminer la couche lipidique (114). Cependant, les centrifugeuses générant des forces plus faibles ne seront efficaces pour éliminer l'échantillon que si la lipémie est causée par l'accumulation de particules plus grosses, les chylomicrons. Si la lipémie est causée par l'accumulation de particules VLDL, le processus est moins efficace et la centrifugation doit être répétée plusieurs fois afin d'obtenir un échantillon clair.(56)Après centrifugation, une couche lipidique sur le dessus du tube est retirée et la mesure est effectuée dans l'infraneigeant. Cette approche n'est donc pas acceptable pour la mesure d'hormones, de médicaments et d'autres substances hydrophobes, car ils seront distribués dans la couche lipidique, et la mesure dans l'infraneigeant entraînera un résultat faussement diminué.(56)

Extraction

Les lipides peuvent être extraits à l'aide de solvants polaires. Certains laboratoires utilisent encore des protocoles manuels avec du polyéthylène glycol ou de la cyclodextrine (115), alors que ce principe est désormais utilisé dans les kits disponibles dans le commerce. D'après les rapports de la littérature, le produit Lipoclear (StatSpin®, Norwood, MA, USA) est largement utilisé. Ce réactif contient un polymère non toxique et non ionique qui fixe les lipides (56). Après centrifugation, ces particules sont précipitées au fond du tube, et la mesure est effectuée dans un surnageant clair. Bien qu'il s'agisse d'une méthode très rapide et efficace d'élimination des lipides, qui ne nécessite aucun équipement spécial, elle ne peut pas être utilisée pour tous les paramètres. Alors que les fabricants déclarent que seuls les phosphates inorganiques ont une faible récupération, d'autres chercheurs ont identifié plusieurs autres analytes inacceptables dans les études de vérification. Vermeer et al. ont trouvé que les paramètres suivants avaient une récupération inférieure à 85% : GGT - gamma-glutamyltransférase, CK-MB - isoenzyme MB de la créatine kinase et CRP (en utilisant les réactifs Beckman Coulter), et ne peuvent donc pas être mesurés dans l'échantillon après traitement avec le réactif Lipoclear(116). Une récupération inférieure à 85 % a également été confirmée pour les mêmes paramètres dans un article récemment publié par Saracevic et al. (117). Cette étude a en outre révélé une récupération inacceptable pour la troponine T (124,7 et 121,5 % pour 300 et 500 mg/dL de concentration d'intralipide ajoutée), ce qui indique que le Lipoclear ne peut pas être utilisé pour nettoyer les échantillons lorsque ce paramètre doit être mesuré. La raison d'une telle divergence entre les déclarations du fabricant et les études de vérification pourrait être que le

fabricant a testé l'effet de l'ajout de Lipoclear dans l'échantillon clair, alors que les deux études mentionnées ont effectué des expériences de récupération dans les échantillons lipémiques.(56)

Dilution de l'échantillon

Pour les analytes distribués dans la couche lipidique, les méthodes qui éliminent la fraction lipidique ne sont pas acceptables. Dans ce cas, la mesure peut être effectuée dans un échantillon dilué du patient. L'échantillon peut être dilué juste assez pour éliminer l'interférence de la turbidité, mais pas trop pour s'assurer que la concentration de l'analyte reste dans les limites analytiques des méthodes testées (2 ou 3 fois). Il s'agit probablement de la meilleure approche pour la mesure des médicaments thérapeutiques dans les échantillons lipémiques. (56)

F- Enquête sur les pratiques de gestion des interférences HIL par les laboratoires européens

Cette enquête réalisée par le groupe de la phase préanalytique de l'EFLM a pour objectif d'évaluer les pratiques de gestion des interférences HIL par les laboratoires européens en vue d'établir des recommandations permettant l'harmonisation des pratiques.

39 questions, dont 17 concernaient la mesure, l'évaluation et les actions de suivi des HIL dans les échantillons sanguins de routine ont été adressées aux laboratoires(118). Les questions ont été dynamiquement cachées ou montrées aux participants en fonction des réponses fournies aux questions précédentes en utilisant un outil d'enquête en ligne automatisé (LimeSurvey, LimeSurvey GmbH, Hambourg, Allemagne). Après avoir été approuvée par le comité scientifique et le comité exécutif de l'EFLM, l'enquête a été envoyée aux

membres de l'EFLM par le biais du réseau de l'Organisation européenne des prestataires externes d'assurance qualité en médecine de laboratoire (EQALM) ou des sociétés nationales de l'EFLM (lorsqu'une organisation EQALM n'était pas disponible dans le pays). L'évaluation des résultats a été réalisée à l'aide de IBM SPSS Statistics V.24 (IBM, Armonk, New York, USA). (119)

Au total, 1416 participants de 45 pays ont répondu à l'enquête. Onze de ces réponses ont été supprimées car elles provenaient de pays non membres de l'EFLM, ce qui laisse 1405 réponses provenant de 37 pays. Parmi les répondants restants, 58 ont déclaré qu'ils n'étaient pas impliqués dans l'analyse d'échantillons sanguins et n'ont donc pas été initiés aux questions concernant l'HIL. L'hémolyse, l'ictère et/ou la lipémie ont été surveillés par 1160 répondants, soit 92% des 1265 répondants qui ont déclaré surveiller/documenter les erreurs préanalytiques et 86% des 1347 répondants qui ont déclaré analyser des échantillons de sang. Cela signifie à nouveau que 14% (N = 187) des répondants qui ont déclaré analyser des échantillons de sang ont déclaré ne pas surveiller les erreurs préanalytiques en général ni les HIL en particulier. (119)

Parmi tous les répondants effectuant des contrôles HIL, la plupart ont déclaré le faire pour les échantillons de chimie clinique. Dans les échantillons reçus pour la coagulation, la toxicologie/la surveillance des médicaments thérapeutiques (TDM) et la sérologie/les analyses de maladies infectieuses, les contrôles HIL étaient effectués moins fréquemment (figure 16). La mesure des HIL a été effectuée soit automatiquement par les indices HIL, soit par inspection visuelle des échantillons, soit par une combinaison de méthodes automatiques et visuelles par 43% (N = 493), 30% (N = 348) et 28% (N = 319) des répondants, respectivement. (119)

Parmi les répondants utilisant des mesures HIL automatisées, 25% (N = 203) ont déclaré que la qualité de ces mesures était régulièrement vérifiée à l'aide de contrôles de qualité internes (CQI). Les réponses à la question de savoir comment les répondants utilisent les informations sur les échantillons HIL pour rejeter ou signaler des analyses sont également présentées par la figure 16.

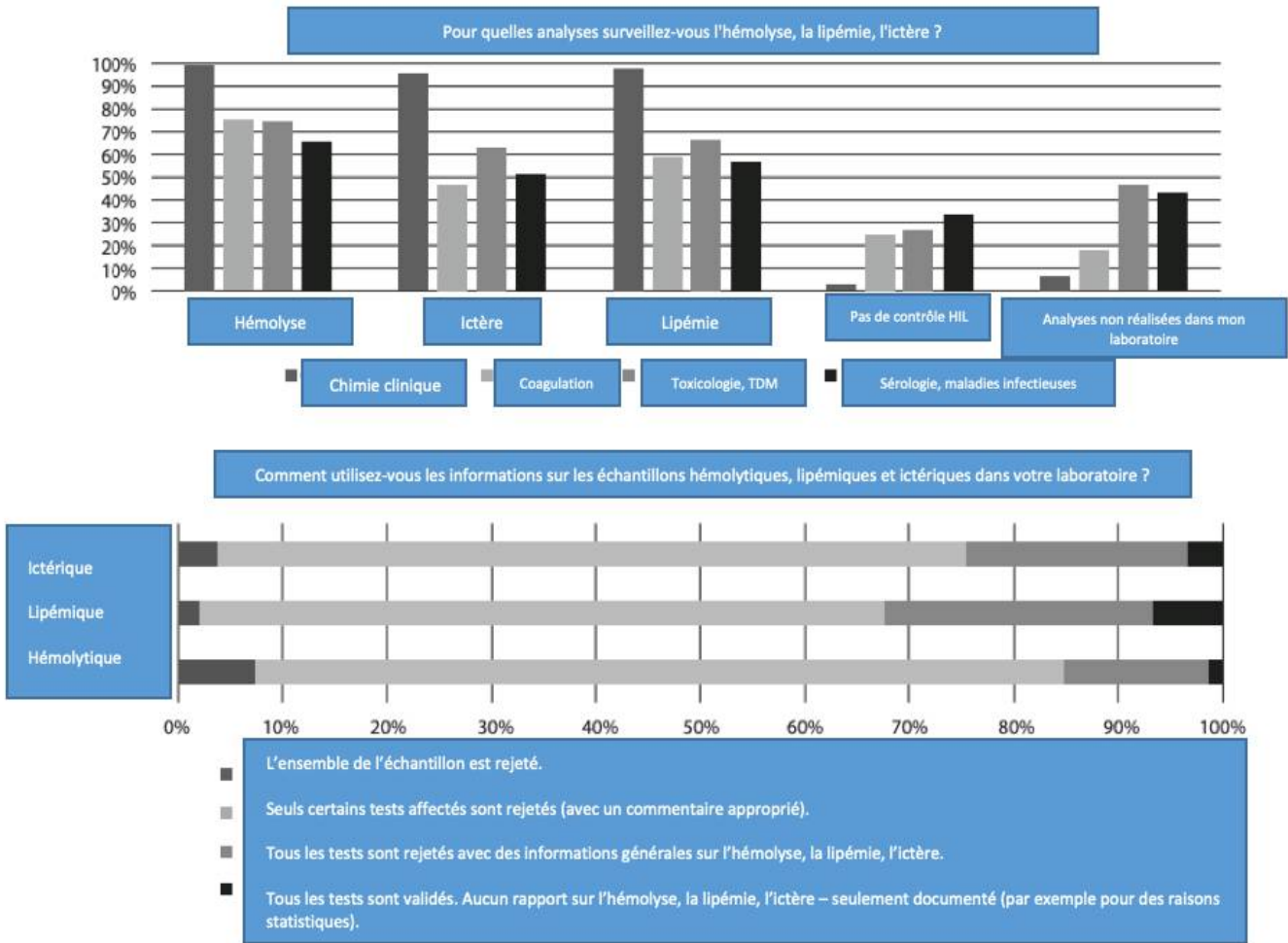


Figure 16 : Réponses aux questions relatives au suivi et à la poursuite de l'utilisation de HIL (119)

La plupart des répondants ont utilisé des seuils spécifiques à l'analyte pour définir les échantillons comme hémolysés, soit fournis par le fabricant du test (54% ; N = 624) ou dérivés en interne (7,2% ; N = 83) (Figure 17). Sur les 624 répondants qui se sont engagés à respecter les seuils d'hémolyse du fabricant, 17% (N = 109) et 22% (N = 137) ont déclaré qu'ils vérifiaient tous ou certains de ces seuils, respectivement. Cela a été fait soit selon les recommandations du Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (33% ; N = 81), soit en utilisant des protocoles locaux (67% ; N = 165)(19).

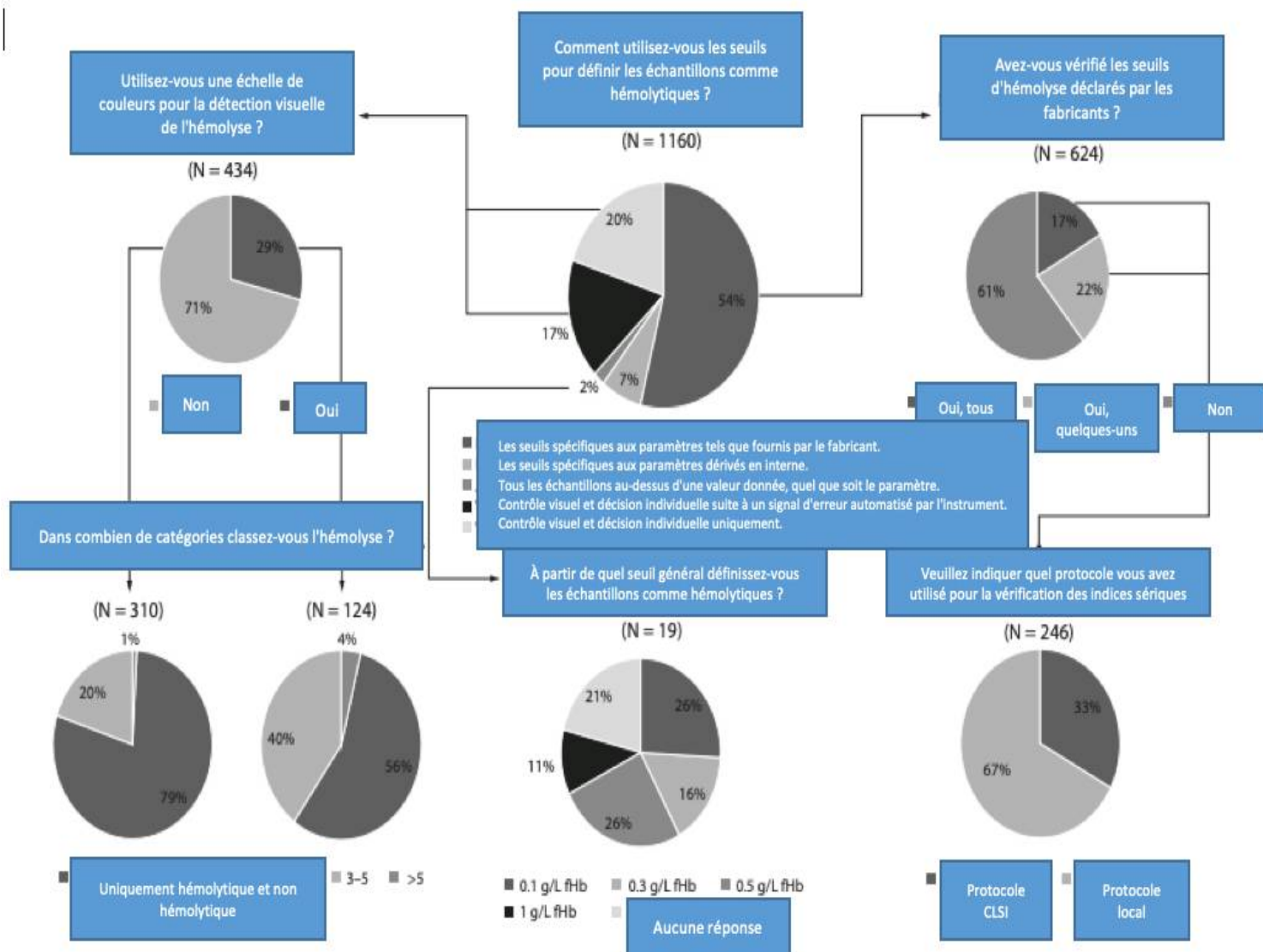


Figure 17 : Réponses aux questions relatives à la définition des échantillons comme hémolytiques. CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. F Hb - hémoglobine libre. (119)

Les seuils définis par les répondants utilisant un seuil universel pour tous les échantillons, ainsi que l'utilisation d'échelles de couleur dans les laboratoires effectuant des contrôles visuels de l'hémolyse, sont également présentés dans la figure 17. Dans l'ensemble, 28% (N = 329) des répondants contrôlant les HIL, ont déclaré que les politiques d'acceptation des échantillons présentant une hémolyse, un ictère ou une lipémie étaient élaborées en collaboration avec les cliniciens. La majorité de ces répondants (89% ; N = 1034) ont déclaré ne pas recalculer ou corriger les résultats des tests dans les échantillons hémolysés. Par ailleurs, 3 % (N = 30) et 8 % (N = 96) des participants ont déclaré le faire pour tous les échantillons hémolysés ou seulement sur demande, respectivement.

Des mesures réfléchies supplémentaires ont toujours/parfois été effectuées par 378 (33%) /346 (30%) et 424 (37%) /282 (24%) des répondants pour les triglycérides dans les échantillons lipémiques ou la bilirubine dans les échantillons ictériques, respectivement. Les informations sur le nombre de répondeurs utilisant les techniques de délipidation dans les échantillons lipémiques sont présentées dans la figure 18.



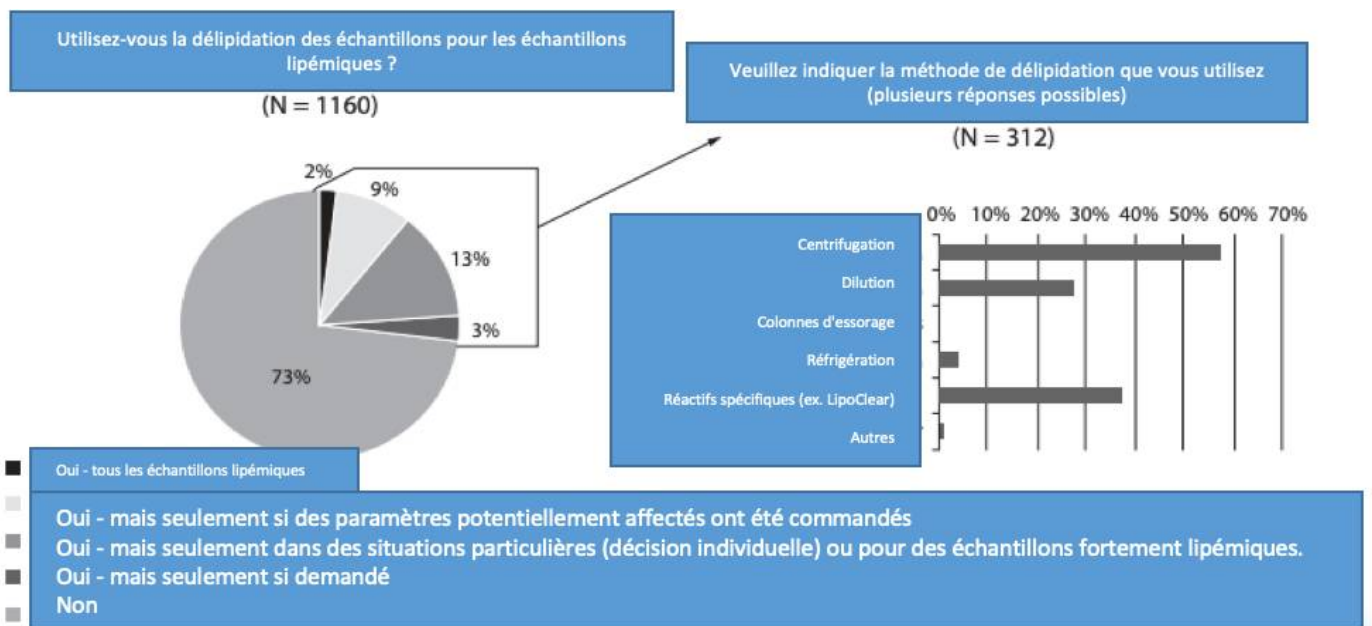


Figure 18 : Réponses relatives aux stratégies de délipidation. (119)



V. PRINCIPAUX PARAMÈTRES BIOCHIMIQUES SOUMIS AUX INTERFÉRENCES HIL

En raison de la grande hétérogénéité des résultats publiés, nous avons opté pour la présentation des résultats de 2 publications, traitant les interférences HIL :

- Pour l'interférence de l'hémolyse : une étude multicentrique française qui a étudié l'influence de l'hémolyse sur les résultats de 26 dosages sanguins d'urgence déterminés sur 13 analyseurs différents sur 17 sites (85)
- Pour l'interférence de la lipémie et de l'ictère : une étude monocentrique française qui a étudié l'influence de ces interférents sur les résultats du dosage de 24 paramètres biochimiques. (120)

G- Principaux paramètres soumis à l'interférence de l'hémolyse

Une liste des paramètres qui interfèrent fréquemment est présentée dans le tableau 7.

Tableau 8: Interférence de l'hémolyse sur le dosage des principaux paramètres (23,34,35,40,41,121)

Paramètre	Commentaires sur l'interférence
Aspartataminotransférase (ASAT)	L'activité de l'ASAT dans les érythrocytes est 40x plus élevée que dans le plasma. Chez les patients dont l'activité de l'AST se situe dans la plage de référence, une hémolyse avec des valeurs d'hémoglobine de 1,5 g/L entraîne une activité élevée de l'AST.
Bilirubine	Des concentrations faussement faibles sont mesurées par la méthode de Jendrassik-Gróf, car l'activité pseudo-peroxydase de l'hémoglobine inhibe la formation du colorant azoïque. L'inhibition peut être observée si la concentration d'hémoglobine libre dans le sérum est supérieure à 0,8 g/L12.
Creatinkinase (CK)	L'adénylkinase érythrocytaire libérée augmente les activités CK- et CK-MB mesurées enzymatiquement. L'adénylkinase ajoutée au mélange de réaction chimique ne peut pas être inhibée par l'AMP et le diadénosinpentaphosphate. Par conséquent, il y a une augmentation du signal de mesure.
Fer	Potentiellement, l'hémoglobine est une énorme source de fer. Cependant, l'effet additif du fer est insignifiant, car la liaison fer-porphyrine est plus forte que la liaison fer-transferrine et les méthodes de détermination du fer ne mesurent que le fer libéré par la transferrine.
Protéines totales	L'effet additif de l'hémoglobine sur la concentration totale de protéines est faible, mais significatif
Acide urique	Seules les concentrations élevées d'hémoglobine entraînent une baisse des valeurs sériques. La méthode uricase-catalase (réaction de Kageyama) est plus sensible aux interférences que la méthode uricase-peroxydase.
Potassium	La concentration de potassium dans les globules rouges est environ 25 x plus élevée que dans le plasma. La concentration de potassium est augmentée, même si l'hémolyse in vitro n'est pas visible par une coloration rouge. Cela peut être remarqué si un échantillon de sang total avec des valeurs de glucose basses est conservé plusieurs heures à température ambiante.
Phosphate inorganique	Les cellules sanguines ont un taux de phosphate élevé, mais la majeure partie est liée à des composés organiques. L'ajout d'esters de phosphate organiques au sérum peut produire une libération de phosphate inorganique qui peut faussement augmenter les concentrations de phosphate. Pour cette raison, le sérum doit être séparé des érythrocytes dans les deux heures suivant le prélèvement de l'échantillon.
électrophorese des protéines sériques	Les complexes hémoglobine-haptoglobine se déplacent entre les fractions α 2- et β -globuline. L'hémoglobine libre migre sous la forme d'une bande rougeâtre diffuse dans la fraction β -globuline
immunodosages	Les immunodosages sont évalués par les fabricants de kits de diagnostic pour détecter les interférences avec l'hémolyse de la même manière que les autres tests de chimie clinique. Cependant, les fabricants se contentent souvent d'ajouter de l'hémoglobine (le plus souvent de la méthémoglobine humaine) aux échantillons. Lorsqu'on soupçonne un facteur d'interférence de l'hémolyse dans un test immunologique, il ne faut pas confondre hémoglobine et hémolyse. Les cellules sanguines contiennent des composants autres que l'hémoglobine qui peuvent gêner les immunodosages. Il est donc très important de demander au fabricant du produit comment le test d'hémolyse a été effectué.

Hormis l'impact homogène et attendu de l'hémolyse sur certains paramètres lié à leur concentration intra-érythrocytaire (interférence d'apport), un effet variable est retrouvé sur d'autres paramètres, en fonction de l'analyseur et/ou de la méthodologie. D'où l'importance de maîtriser la mesure de l'hémolyse sur chaque échantillon. Cette maîtrise permettra au biologiste d'accomplir pleinement son rôle d'information des cliniciens et de formations des techniciens. (85)

Une étude multicentrique française portant sur l'étude de l'interférence de l'hémolyse sur les examens utilisés en biochimie d'urgence a été réalisée. (85)

L'influence de l'hémolyse sur les résultats de 26 dosages sanguins de biochimie d'urgence (sodium, potassium, chlorures, urée, créatinine, glucose, protéines totales, calcium total, magnésium, phosphore, acide urique, C-réactive protéine, bilirubine totale, ASAT, ALAT, LDH, CK, phosphatase alcaline, GGT, lipase, alcool, fer, hCG, troponines, peptides natriurétiques) a été déterminée avec 13 analyseurs différents sur 17 sites. (85)

Quatre pools d'échantillons ont été surchargés avec 6 concentrations croissantes en hémolysat (concentration finale de 0 à 1 000 mg/dL). Les valeurs moyennes des dosages, effectués en double, ont été calculées pour tous les tests pour chaque analyseur. Les indices d'hémolyse ont été mesurés. Le seuil d'interférence a été calculé pour chaque paramètre en tenant compte des variances analytiques et biologiques. Ainsi, la concentration minimale d'hémoglobine à partir de laquelle une interférence est considérée comme significative c'est-à-dire amenant à un résultat erroné, correspond à la surcharge pour laquelle la variation liée à l'interférent I% est supérieure à un seuil limite calculé en tenant compte des variabilités analytiques et biologiques, la variation

limite totale acceptable table (VLTA) ou total change limit (TLC) (122) calculée par la formule $TCL = \frac{CVA}{\sqrt{2}}$ déjà mentionnée et ou la variabilité analytique (CVa) correspond au CV de reproductibilité (exprimé en %), selon les données de la SFBC et choisi pour le niveau moyen d'analyte (109). Lorsque ce critère n'est pas défini (ex. : BNP, TnI, TnT et NT-proBNP), le CVa choisi correspond soit à l'état de l'art (10 % pour les troponines) soit aux données de précision inter-laboratoire indiquées par le Contrôle national de qualité 2010 (BNP, NT-proBNP). La variabilité biologique correspond à la variabilité intra individuelle indiquée dans les tables de Ricos (CVw) (123) ou dans la littérature (BNP) (124). Pour les analyses hCG et alcool, la variabilité intra-individuelle a été considérée comme nulle. Ainsi, si la variation induite par l'interfèrent I (%), est supérieure au TCL, alors une interférence est objectivée. Les seuils décisionnels (TCL) calculés pour chaque dosage sont indiqués dans le tableau suivant. (85)

Tableau 9 : Seuils décisionnels calculés(TCL)pour chaque analyte étudié.
(85)

Analyse	CVa	CVw	TCL (%)
Na	1,1	0,7	3,1
K	1,6	4,8	5,0
Chlorures	1,6	1,2	4,5
Urée	4	12,3	12,7
Créatinine	4,5	6	12,8
Glucose	2,4	4,5	7,0
Protéines	2,4	2,7	6,8
Calcium	1,6	1,9	4,5
ASAT	6	11,9	17,7
ALAT	6	18	18,9
LDH	6	8,6	17,2
CK	6	22,8	20,2
PAL	6	6,4	16,9
Lipase	6	23,1	20,2
Bilirubine totale	5,6	23,8	19,6
Ac. urique	3,2	9	9,9
CRP	6	42,2	26,9
BNP	8,4	22,3	25,8
NT-proBNP	4,7	10	13,9
Alcool	10	0	27,7
Tnl	10	9,7	28,1
TnT	10	30,5	31,6
Phosphore	3,3	8,5	10,1
Magnésium	3,2	3,6	9,0
GGT	6	13,8	18,0
Fer	5	26,5	19,2
hCG	10	0	27,7

Hormis l'impact homogène et attendu de l'hémolyse sur certains paramètres lié à leur concentration intra-érythrocytaire (interférence d'apport), un effet variable est retrouvé sur d'autres paramètres, en fonction de l'analyseur et/ou de la méthodologie. (Tableau10) (85)

Tableau 9: Interférences de l'hémolyse sur la mesure des analytes en fonction des techniques utilisées. (85)

Analyseur	Architect C 8200	Architect 16000 et i2000	Architect C 8000	D x C 600i	D x C 800	Cobas 6000	Cobas C 501	Cobas 6000	Intégra 800	Intégra 800	Intégra 800	Modular	Modular P	AIA	Advia 2400	Advia 18000	Advia Centaur	R X L max	R X L * HM	Fusion	Fusion 5*1	Fusion 5600	
Fournisseur	Abbott	Abbott	Abbott	Beckman-Coulter	Beckman-Coulter	Roche	Roche	Roche	Roche	Roche	Roche	Roche	Roche	Tosoh	Siemens	Siemens	Siemens	Siemens	Siemens	Ortho CD	Ortho CD	Ortho CD	
Site	St Denis	Lyon	Gonesse	Lorient	Valence	Chalon	Eaubonne	Dax	Chambéry	Bourgoin	Roanne	Chambéry	Vannes	Site ?	Lille	Boulogne/Mer	Vannes	Argenteuil	Vienne	Vienne	St Denis	Calais	
Unité d'évaluation de l'hémolyse	mg/dl	mg/dl	mg/dl	Index	Index	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	mg/dl	Indice d'hémolyse	Indice d'hémolyse	mg/dl	Indice d'hémolyse	Indice d'hémolyse	mg/dl	mg/dl	mg/dl	
Na	*	1024	1105	Interf. Non	10	822	1182	*	*	1135	782	*	687	*	4	4	*	6	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	
K	*	140	137	4	2	134	135	*	*	82	100	*	86	*	2	1	*	3	3	*	166	115	
chlorures	*	712	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	1090	Interf. Non	*	*	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	*	6	*	*	Interf. Non	Interf. Non	
uree	*	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	*	*	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	
créatinine	*	Interf. Non	Interf. Non	7	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	*	*	664	504	*	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	6	*	Interf. Non	Interf. Non
glucose	*	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	*	*	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	*	6	6	*	1000	756	
protéines	*	540	531	7	Interf. Non	526	525	*	*	510	388	*	333	*	4	4	*	6	6	*	596	425	
calcium	*	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	*	*	Interf. Non	Interf. Non	*	518	*	Interf. Non	Interf. Non	*	3	3	*	Interf. Non	Interf. Non	
ASAT	*	140	137	4	4	134	135	*	*	131	100,5	*	38	*	2	1	*	3	3	*	164	115	
ALAT	*	Interf. Non	836	7	10	822	1082	*	*	664	594	*	518	*	4	4	*	6	6	*	?	425	
LDH	*	62,5	62,5	2	2	59	60	*	*	62	47,5	*	38	*	1	1	*	3	3	*	76	54	
CK	*	Interf. Non	Interf. Non	7	10	526	525	*	*	510	388	*	333	*	4	4	*	6	6	*	596	425	
PAL	*	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	526	525	*	*	510	388	*	687	*	4	4	*	Interf. Non	Interf. Non	*	596	425	
Lipase	*	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	*	*	664	Interf. Non	*	437	*	4	4	*	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	
Bilirubine totale	*	Interf. Non	703	2	4	526	525	*	*	664	388	*	518	*	Interf. Non	Interf. Non	*	3	3	*	77	54	
Ac. Urrique	*	140	Interf. Non	7	10	Interf. Non	Interf. Non	*	*	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	*	4	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	
CRP	*	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	*	*	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	*	1000	Interf. Non	
BNP	623	393	*	?	Interf. Non	NA	*	NA	NA	NA	NA	NA	NA	*	4	*	712	Interf. Non	*	NA	NA	NA	
NT-proBNP	*	NA	NA	NA	NA	Interf. Non	*	Interf. Non	*	NA	NA	Interf. Non	NA	*	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Interf. Non	*	Interf. Non
Alcool	Interf. Non	*	*	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	*	*	*	*	*	Interf. Non (CPG)	*	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	*	Interf. Non	
TnI	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	NA	*	NA	NA	NA	NA	NA	NA	Interf. Non	?	*	?	Interf. Non	*	Interf. Non	*	Interf. Non	
TnT	NA	NA	*	NA	NA	Interf. Non	*	Interf. Non	NA	NA	NA	Interf. Non	NA	*	NA	*	NA	NA	NA	NA	*	NA	
Phosphore	214	209	*	?	4	435	*	382	*	*	*	*	*	*	2	*	*	5	*	346	*	348	
Magnésium	108	103	*	?	10	1183	*	1048	1000	Interf. Non	*	*	*	*	*	*	*	6	*	992	*	Interf. Non	
GGT	Interf. Non	Interf. Non	*	?	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	*	*	*	*	Interf. Non	Interf. Non	*	?	*	Interf. Non	*	Interf. Non	
Fer	412	103	*	?	4	435	*	382	712	669	*	*	*	*	2	*	*	5	*	67	*	55	
hCG	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	NA	NA	*	Interf. Non	*	*	Interf. Non	*	Interf. Non	Interf. Non	*	Interf. Non	*	Interf. Non	

Légende :	Interf. Non :	pas d'interférence dans la gamme testée	
	NA :	non applicable	
	* :	non fait	
	?:	non interprétable	
		Seuil à partir duquel une interférence est objectivée	Hb mg/dL
		0-150	0-2
		151-300	3-5
		301-500	6-8
		501-1200	>8

Comme attendu, les interférences par apport du contenu des érythrocytes font apparaître des scores d'interférences proportionnels à la concentration érythrocytaire et sont retrouvés sur tous les analyseurs. Si pour la LDH, K et ASAT cette règle est respectée, dans certains cas on observe des différences selon l'analyseur et la technique utilisée. Ainsi, pour les protéines totales l'interférence est marquée sur les analyseurs avec indice quantitatif (seuil aux alentours de 500 mg/dL) et plus hétérogène pour les autres. Pour les autres analytes, l'impact de l'hémolyse varie en fonction de l'analyseur. Par exemple l'hémolyse interfère sur le dosage de la CK pour tous les systèmes sauf l'Architect, pour la bilirubine l'interférence est constante sauf pour l'Advia (85)

H- Principaux paramètres soumis à l'influence de l'ictère et lipémie

Une étude de l'influence de la lipémie et de l'ictère a été menée pour 24 paramètres biochimiques sur le Cobas 6000 de Roche.

La mise en surcharge avec de l'Intralipid® ou du ditaurate de bilirubine a été réalisée sur différents pools plasmatiques. On définit les indices limites de lipémie et d'ictère pour un paramètre, comme les concentrations les plus élevées d'Intralipid® ou de bilirubine qui peuvent être ajoutées à un échantillon de plasma sans affecter le résultat du dosage. Pour définir une interférence sur la mesure, la limite de 10% a été choisie.

Un classement des paramètres étudiés en différentes catégories a été effectué selon que leur mesure était affectée ou non. (120)

Le tableau suivant résume les paramètres sur lesquels l'interférence de la lipémie a été étudiée (120)

Tableau 10: Interférences de l'hémolyse sur la mesure des analytes en fonction des techniques utilisées. (85)

Paramètre	Données fournisseur		Données expérimentales					
	Valeur testée	Indice de lipémie	Valeur étudiée	Indice de lipémie	Valeur étudiée	Indice de lipémie	Valeur étudiée	Indice de lipémie
ALAT (μkat/L)	0,58	150	0,26	<u>92</u>	3,37	142		
ALB (g/L)	35	550	16	<u>278</u>	37	467		
ASAT (μkat/L)	0,58	150	0,37	188	2,63	217		
AUR (μmol/L)	417	1 500	163	> 2 242	362	> 2 308		
CA (mmol/L)	2,2	1 000	2,14	> 1 983	2,76	> 1 346		
CK (μkat/L)	2,34	1 000	0,97	<i>1 120</i>	4,13	984		
CRE (μmol/L)	80	800	43	<i>984</i>	236	904		
CRP (mg/L)	5	1 000	18	> 2 289	73	> 2 377		
CT (mmol/L)	5,2	2 000	2,87	> 2 248	3,79	> 2 287		
GGT (μkat/L)	0,67	1 500	1,05	<u>1 120</u>	3,93	> 2 395		
GLU (mmol/L)	3,8	1 000	3,2	<i>1 422</i>	14,9	<i>2 645</i>		
HDL-C (mmol/L)	1	1 800	0,68	> 2 287	0,79	> 2 248		
LDH (μkat/L)	3,34	1 500	2,45	<i>1 624</i>	7,10	<u>1 205</u>		
LIP (μkat/L)	1	2 000	0,59	> 2 515	3,46	> 2 399		
Mb (ng/L)	NC	2 200	54	> 2 296	1 293	> 2 187		
Mg (mmol/L)	0,7	2 000	0,47	> 2 515				
NT-pro BNP (ng/L)	NC	1 500	31,5	> 2 280	1 118	> 2 215	2 555	> 2 320
P (mmol/L)	0,87	1 250	0,43	1 146				
PAL (μkat/L)	1,67	2 000	0,84	> 2 515	4,53	> 2 385		
PT (g/L)	66	2 000	29	> 2 515	99	> 1 723		
S100 (μg/L)	NC	1 500	0,09	<i>2 209</i>	1,1	> 3 000		
TNT hs (ng/L)	> 100	1 500	45,9	> 2 296	380,7	> 2 215		
UR (mmol/L)	8,3	1 000	3,9	<i>1 422</i>	14,0	<i>1 500</i>		

Pour chaque paramètre sont précisées : les données fabricants (valeur du paramètre pour laquelle a été déterminé l'indice de lipémie et indice de lipémie auquel une interférence est signalée), les données expérimentales (valeurs testées au laboratoire et indice de lipémie déterminé expérimentalement pour cette valeur). L'indice de lipémie correspond à la concentration en Intralipid® la plus faible donnant un résultat supérieur à plus ou moins 10 % par rapport à la valeur attendue. En italiques, les indices expérimentaux supérieurs à ceux fournis par le fabricant, en souligné les indices expérimentaux inférieurs à ceux fournis par le fabricant. En gras, les indices expérimentaux identiques à ceux fournis par le fabricant. NC = données non communiquées.

Paramètres pour lesquels l'influence de la lipémie a été étudiée sur l'automate Cobas 6000 Roche.
(120)

Quelques paramètres ne sont pas influencés par la lipémie quelle que soit la valeur du paramètre en considération (élevée, normale ou basse). Les paramètres en question sont le calcium, le cholestérol total, l'acide urique, la GGT, la CRP, le HDL-cholestérol, la myoglobine, la lipase, le magnésium, les phosphatases alcalines, le NT-pro BNP, les protéines totales, la troponine T hypersensible et la protéine S100. Concernant ces paramètres, l'ajout de l'Intralipid à des concentrations atteignant 2200 mg/dL n'a aucun impact erroné sur la mesure. (120)

Pour la créatine kinase, la créatinine, le lactate déshydrogénase, le glucose, l'urée et le phosphore, on constate une influence de la lipémie à partir de concentrations élevées d'Intralipid (supérieure à 1000mg/dL). (120)

Selon cette étude, seulement trois paramètres sont très affectés par la lipémie. Il s'agit de l'albumine, l'ALAT et l'ASAT : L'ALAT et l'ASAT reposent sur la mise en œuvre d'une détection par variation de la longueur d'onde à 340 nm sur une cinétique décroissante. L'influence de la lipémie sur leur dosage est similaire sans que pour autant la longueur d'onde de mesure ne soit remise en cause du fait qu'elle est aussi utilisée pour doser la CK, le LDH, le calcium, le glucose, l'urée et le phosphore. (120)

Parallèlement, l'interférence de la lipémie sur le dosage de l'albumine ne peut être justifiée par la longueur d'onde de détection de 570 nm, qui est notamment utilisée pour le dosage de la lipase et de la CRP. (120)

L'interférence de la bilirubine conjuguée a été étudiée sur les paramètres cités dans le tableau suivant :

Tableau 11: Paramètres pour lesquels l'influence de l'ictère a été étudiée sur l'automate Cobas 6000 Roche. (120)

Paramètre	Données fournisseur		Données expérimentales			
	Valeur testée	Indice d'ictère	Valeur étudiée	Indice d'ictère	Valeur étudiée	Indice d'ictère
ALAT (μkat/L)	0,58	1 026	0,23	<u>785</u>	1,93	> 1 240
ALB (g/L)	35	1 026	25	> 2 059	38	> 1 322
ASAT (μkat/L)	0,58	1 026	0,39	1 470	3,85	1 200
AUR (μmol/L)	417	684	226	<u>838</u>	353	> 737
CA (mmol/L)	2,2*	1 026	1,74	> 1 670	2,16	> 1 325
CK (μkat/L)	2,34	1 026	1,02	1 470	14,95	1 027
CRE (μmol/L)	80	86	62	101	359	> 805
CRP (mg/L)	5	1 026	13	> 1 258	146	> 1 324
CT (mmol/L)	5,2	274	2,78	<u>133</u>	4,62	<u>189</u>
GGT (μkat/L)	0,67	855	0,97	> 1 470	2,64	> 1 348
GLU (mmol/L)	3,9	1 026	3,3	> 1 470	12,0	> 1 281
HDL-C (mmol/L)	1	513	0,73	<u>257</u>	0,85	393
LDH (μkat/L)	3,34	1 026	2,6	> 1 347	8	> 1 215
LIP (μkat/L)	1	855	0,58	> 1 470	3,11	> 1 470
Mb (μg/L)	NC	1 112	48	> 1 470	1 253	> 1 335
NT-pro BNP (ng/L)	NC	428	28	> 838	1 847	> 815
PAL (μkat/L)	1,67	1 026	0,8	835	4,3	> 1 380
PT (g/L)	66	342	29,9	≤ 277	73,8	492
TG (mmol/L)	2,3	171	0,65	88	2,53	112
TNT hs (ng/L)	> 100*	428	56	> 832	501	> 772
UR (mmol/L)	8,3	1 026	4,5	> 1 470	16,2	> 1 470

Pour chaque paramètre sont précisées : les données fabricants (valeur du paramètre pour laquelle a été déterminé l'indice d'ictère et indice d'ictère auquel une interférence est signalée), les données expérimentales (valeurs testées au laboratoire et indice d'ictère déterminé expérimentalement pour cette valeur). L'indice d'ictère correspond à la concentration en bilirubine conjuguée la plus faible donnant un résultat supérieur à plus ou moins 10 % par rapport à la valeur attendue. En italiques, les indices expérimentaux supérieurs à ceux fournis par le fabricant, en souligné les indices expérimentaux inférieurs à ceux fournis par le fabricant. En gras, les indices expérimentaux identiques à ceux fournis par le fabricant. NC = données non communiquées.

Quelques paramètres ne sont pas influencés par l'ictère quelle que soit la valeur du paramètre en considération (élevée, normale ou basse). Les paramètres en question sont l'ALAT, l'ASAT, l'albumine, le calcium, la créatine kinase, l'acide urique, la GGT, la CRP, le lactate déshydrogénase, la myoglobine, la

lipase, les phosphatases alcalines, le NT-pro BNP, l'urée et la troponine T hypersensible. Concernant ces paramètres, l'ajout de ditaurate de bilirubine à des concentrations atteignant 800 $\mu\text{mol/L}$ n'a aucun impact erroné sur la mesure. Dans cette étude, ils ont retenu le seuil de 800 $\mu\text{mol/L}$ de ditaurate de selon des valeurs pathologiques maximales de bilirubine conjuguée observées en cas d'ictère sévère.

Concernant les faibles activités d'ALAT et des phosphatases alcalines, il est constaté l'apparition d'une légère interférence négative non renseignée par le fournisseur pour des indices d'ictère élevés. Inversement, la limite d'interférence fournisseur semble avoir été sous-estimée pour la GGT mais sans conséquence clinique significative.

D'autres paramètres, dont 5 essentiellement, sont fortement impactés par la bilirubine conjuguée : le cholestérol total, le HDL-cholestérol, la créatinine, les triglycérides et les protéines totales. Au sein des paramètres affectés par l'ictère à bilirubine conjuguée, on compte la créatinine évaluée selon la méthode colorimétrique par la réaction de Jaffé compensée (utilisation d'acide picrique en milieu alcalin). Dès un indice d'ictère égal à 196 pour une valeur de créatinine étudiée normale à 62 $\mu\text{mol/L}$, l'interférence apparaît. Elle provoque une sous-estimation de la valeur de créatinine de 25 % pour un indice d'ictère de 580. Par contre l'interférence n'est pas rencontrée pour une valeur importante de créatinine à 359 $\mu\text{mol/L}$. Il faut noter que l'interférence négative de l'ictère sur le dosage de la créatinine est aussi mentionnée avec des méthodes de dosages enzymatiques (54). Il est bien connu par les biologistes les conséquences de la bilirubine sur la mesure de la créatinine. Cependant, les résultats de cette étude permettent de réduire l'effet de cette interférence pour des concentrations de

créatinines élevées, ce qui est certainement connu mais non indiqué par le fournisseur. On peut comparer l'interférence de la bilirubine conjuguée ictère sur la créatinine à celle de l'hémoglobine sur l'ASAT, le CT, la créatinine et les triglycérides dans la mesure où ces interférences influencent le dosage uniquement pour des valeurs faibles ou normales des paramètres testés. La dilution de l'échantillon afin de réduire l'indice d'ictère (réduction du volume de l'échantillon, donc réduction de l'indice de jaunisse) pourrait être une cause d'erreur, tandis que l'impact de la bilirubine conjuguée prend de l'importance dans cette zone de mesure. (116)



La maîtrise de la gestion des interférences liées à l'hémolyse, à l'ictère ou à la lipémie participent en grande partie à l'amélioration de la qualité du processus préanalytique. Elle constitue l'un des challenges les plus importants pour le laboratoire de Biochimie médicale. En effet, la connaissance de la fiabilité des résultats rendus sur des échantillons hémolysés, lipémiques ou ictériques est nécessaire à l'activité d'un laboratoire d'urgence et de routine.

La plupart des auto analyseurs modernes assurent la détection par mesures spectrophotométriques de l'hémolyse, de l'ictère et de la lipémie. Le résultat est rendu sous forme d'indices HIL interprétés en fonction des seuils spécifiques fournis par les fournisseurs, le plus souvent sans vérification préalable par les biologistes. Cependant, la vérification de ces seuils ainsi qu'une définition de critères d'acceptabilité basés sur les performances analytiques du laboratoire et sur l'utilisation clinique permettraient d'adapter les modalités de compte rendu dans le cas d'échantillons hémolysés, lactescents et / ou ictériques. Cette démarche permettrait l'harmonisation et la standardisation des processus pré- et post-analytiques évitant ainsi une prise en charge inappropriée du malade liée soit à l'annulation abusive des résultats avec un surcoût lié à la répétition des analyses, soit à un rendu de résultats erronés conduisant à une mauvaise interprétation.

Cependant, le coût et le temps nécessaire à ce type d'étude rend leur généralisation difficile. Une alternative consisterait à étudier l'impact de ses interférences sur les paramètres biochimiques les plus demandés en urgence ce qui permettrait le rendu de résultats des paramètres dont la mesure n'est pas perturbée par la présence de ces interférences assurant ainsi un gain de temps dans la prise en charge des patients.



RÉSUMÉ

Titre : Interférences de l'hémolyse, de l'ictère et de la lipémie sur les dosages biochimiques

Auteur : CHARIFI FATIMA-ZOHRA

Rapporteur : Pr. BOUHSAINÉ SANAË

Mots clés : hémolyse, ictère, lipémie, interférences.

La présence dans les prélèvements sanguins de certaines substances endogènes tel que l'hémoglobine, la bilirubine ou les lipoprotéines peut être à l'origine d'erreurs pouvant impacter la fiabilité, la justesse et l'exactitude des résultats. Les fabricants de trousse diagnostics et de kits réactifs sont tenus de fournir des informations concernant la sensibilité de chacun de leur dosage aux principales substances interférentes et ce sur la base d'études faites par le fabricant. Dans le cadre de l'accréditation des laboratoires, les NM NF EN ISO15189 stipulent que l'influence des interférents sur la qualité des résultats doit être documentée soit en utilisant les données des fournisseurs soit en procédant à son étude. L'appréciation visuelle de l'hémolyse, de l'ictère et de la lipémie est actuellement fortement déconseillée au profit d'une mesure spectrophotométrique réalisée par la majorité des auto analyseurs. Cependant, il subsiste une hétérogénéité des pratiques à la fois pour l'interprétation et la communication des résultats de tests potentiellement affectés par ces interférences. La standardisation des processus pré- et post-analytiques des échantillons hémolysés, ictériques ou lipémiques éviterait une prise en charge inappropriée du malade liée soit à l'annulation abusive des résultats avec un surcoût lié à la répétition des analyses, soit à un rendu de résultats erronés conduisant à une mauvaise interprétation.

Abstract:

Title: Interferences of hemolysis, icterus and lipemia on biochemical assays

Author: CHARIFI FATIMA-ZOHRA

Supervisor: Pr. BOUHSAINE SANAE

Key words: hemolysis, icterus, lipemia, interference

The presence of certain endogenous substances in blood samples, such as hemoglobin, bilirubin or lipoproteins, can cause errors that can affect the reliability, accuracy and precision of results. Manufacturers of diagnostic and reagent kits are required to provide information regarding the sensitivity of each of their assays to key interfering substances based on studies performed by the manufacturer. In the context of laboratory accreditation, the NM NF EN ISO15189 stipulates that the influence of interferents on the quality of results must be documented either by using supplier data or by conducting a study. Visual assessment of hemolysis, jaundice and lipemia is currently strongly discouraged in favor of spectrophotometric measurement performed by most autoanalyzers. However, there remains a heterogeneity of practices for both the interpretation and communication of test results potentially affected by these interferences. Standardization of pre- and post-analytical processes for hemolyzed, icteric or lipemic samples would avoid inappropriate management of the patient, either by improper cancellation of results with additional costs related to the repetition of the analyses, or by reporting erroneous results leading to a wrong interpretation.

ملخص

العنوان: تدخلات انحلال الدم واليرقان والدهون في المقاييسات البيوكيميائية
الاسم: شريفي فاطمة الزهراء
المشرف: الاستاذة بوحساين سناء
الكلمات الأساسية: انحلال الدم، اليرقان، الدهون، التدخلات

يمكن أن يكون وجود بعض المواد ذات التركيب الداخلي في عينات الدم مثل الخضاب الدموي، البيليروبين أو البروتينات الدهنية سبب الأخطاء التي يمكن أن تؤثر على موثوقية و صحة و دقة النتائج. يُطلب من مصنعي مجموعات التشخيص و مجموعة الكواشف تقديم معلومات عن حساسية كل فحص من اختباراتهم للمواد المتداخلة الرئيسية على أساس الدراسات التي أجراها الصانع في سياق اعتماد المختبرات تنص المعايير المغربية، الفرنسية، الأوروبية و إيزو 15189 على وجوب توثيق تأثير المتداخلات على جودم النتائج إما باستخدام بيانات الموردين أو بإجراء دراسة التقييم البصري لانحلال الدم و اليرقان و الليبيما (شحمية الدم) محبط بشدة في الوقت الحالي لصالح قياس الطيف الضوئي التي تقوم به غالبية المحللين الذاتيين، و مع ذلك لا يزال هناك تباين في الممارسات المتعلقة بتفسير نتائج الاختبارات التي يحتمل أن تتأثر بهذا التدخل و إبلاغها. إن توحيد العمليات السابقة واللاحقة للتحليل للعينات المتحللة للدم أو اليرقان أو الدهون من شأنه تجنب رعاية غير مناسبة للمريض المرتبطة إما بالإلغاء التعسفي للنتائج مع تكلفة إضافية تتعلق بتكرار التحليلات أو تقديم نتائج خاطئة تؤدي إلى سوء التفسير.



- [1] Giavarina D, Lippi G. Blood venous sample collection: Recommendations overview and a checklist to improve quality. *Clinical Biochemistry*. juill 2017;50(10-11):568-73.
- [2] Manuel de Prélèvement. :12.
- [3] Lippi G, von Meyer A, Cadamuro J, Simundic AM. Blood sample quality. *Diagnosis (Berl)*. 26 mars 2019;6(1):25-31.
- [4] Lehmann S, Roche S, Allory Y, Barthelaix A, Beaudeau JL, Berger F, et al. Recommandations préanalytiques pour les analyses de protéomique clinique des fluides biologiques. *Annales de Biologie Clinique*. 1 nov 2009;67(6):629-39.
- [5] Lippi G, Simundic AM, European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE). The EFLM strategy for harmonization of the preanalytical phase. *Clin Chem Lab Med*. 25 sept 2018;56(10):1660-6.
- [6] Marshall WJ, Bangert SK, Raynaud E. *Biochimie médicale: physiopathologie et diagnostic*. Elsevier Masson; 412 p.
- [7] Moulay A. *Laboratoire d'Analyses Médicales*. :58.
- [8] Nybo M, Grinsted P, Jørgensen PE. Blood Sampling: Is Fasting Properly Defined? *Clinical Chemistry*. 1 août 2005;51(8):1563-4.

- [9] Simundic AM, Cornes M, Grankvist K, Lippi G, Nybo M. Standardization of collection requirements for fasting samples: for the Working Group on Preanalytical Phase (WG-PA) of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM). *Clin Chim Acta*. 15 mai 2014;432:33-7.
- [10] Kackov S, Simundic AM, Gatti-Drnic A. Are patients well informed about the fasting requirements for laboratory blood testing? *Biochem Med (Zagreb)*. 2013;23(3):326-31.
- [11] Nikolac N, Supak-Smolčić V, Simundić AM, Celap I, Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine. Croatian Society of Medical Biochemistry and Laboratory Medicine: national recommendations for venous blood sampling. *Biochem Med (Zagreb)*. 2013;23(3):242-54.
- [12] Lippi G, Banfi G, Church S, Cornes M, De Carli G, Grankvist K, et al. Preanalytical quality improvement. In pursuit of harmony, on behalf of European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working group for Preanalytical Phase (WG-PRE). *Clin Chem Lab Med*. févr 2015;53(3):357-70.
- [13] Lippi G, Guidi GC. Risk management in the preanalytical phase of laboratory testing. *Clin Chem Lab Med*. 2007;45(6):720-7.
- [14] Lippi G, Avanzini P, Sandei F, Aloe R, Cervellin G. Blood sample contamination by glucose-containing solutions: effects and identification. *Br J Biomed Sci*. janv 2013;70(4):176-9.

- [15] Cornes M, van Dongen-Lases E, Grankvist K, Ibarz M, Kristensen G, Lippi G, et al. Order of blood draw: Opinion Paper by the European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for the Preanalytical Phase (WG-PRE). *Clin Chem Lab Med*. 1 janv 2017;55(1):27-31.
- [16] Lippi G, Simundic AM, Rodriguez-Manas L, Bossuyt P, Banfi G. Standardizing in vitro diagnostics tasks in clinical trials: a call for action. *Ann Transl Med*. mai 2016;4(9):181.
- [17] Ali D. Interférence de l'hémolyse, de la lipémie et de l'ictère sur les dosages des principaux paramètres biochimiques. Angers: Université Angers; 2015. p. 121.
- [18] FT-Ech-hemolyse-lipemique-ictrique.pdf [Internet]. [cité 19 oct 2022]. Disponible sur: https://www.cscq.ch/SiteCSCQ/FichierPDF_FR/FT-Ech-hemolyse-lipemique-ictrique.pdf
- [19] McEnroe RJ. Interference testing in clinical chemistry: approved guideline. 2nd ed. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2005.
- [20] Kroll MH, Elin RJ. Interference with clinical laboratory analyses. *Clin Chem*. nov 1994;40(11 Pt 1):1996-2005.
- [21] Dimeski G, Clague AE. Bicarbonate interference with chloride-ion-selective electrodes. *Clin Chem*. juin 2004;50(6):1106-7.
- [22] Damien A. THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE. :121.

- [23] Thomas L. Haemolysis as Influence & Interference Factor. EJIFCC. 10 juin 2002;13(4):95-8.
- [24] Dhondt JL, Hayte JM, Demouveau A. Les prélèvements « hémolysés ». Annales de Biologie Clinique. 6 oct 2000;58(5):639-0.
- [25] Wg G. Haemolysis as an influence and interference factor in clinical chemistry. Journal of clinical chemistry and clinical biochemistry Zeitschrift fur klinische Chemie und klinische Biochemie [Internet]. févr 1986 [cité 14 sept 2022];24(2). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/3711796/>
- [26] Burns ER, Yoshikawa N. Hemolysis in Serum Samples Drawn by Emergency Department Personnel versus Laboratory Phlebotomists. Lab Med. mai 2002;33(5):378-80.
- [27] Moss G, Staunton C. Blood flow, needle size and hemolysis--examining an old wives' tale. N Engl J Med. 23 avr 1970;282(17):967.
- [28] 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. juin 2011;48(3):143-53.
- [29] Hashimoto C. Autoimmune hemolytic anemia. Clin Rev Allergy Immunol. 1998;16(3):285-95.
- [30] Bessler M, Schaefer A, Keller P. Paroxysmal nocturnal hemoglobinuria: insights from recent advances in molecular biology. Transfus Med Rev. oct 2001;15(4):255-67.

- [31] Chiao EY, Engels EA, Kramer JR, Pietz K, Henderson L, Giordano TP, et al. Risk of immune thrombocytopenic purpura and autoimmune hemolytic anemia among 120 908 US veterans with hepatitis C virus infection. *Arch Intern Med.* 23 févr 2009;169(4):357-63.
- [32] Lippi G, Cervellin G, Favaloro EJ, Plebani M. In Vitro and In Vivo Hemolysis: An Unresolved Dispute in Laboratory Medicine [Internet]. *In Vitro and In Vivo Hemolysis.* De Gruyter; 2012 [cité 14 sept 2022]. Disponible sur:
<https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/9783110246148/html>
- [33] Pai SH, Cyr-Manthey M. Effects of Hemolysis on Chemistry Tests. *Laboratory Medicine.* 1 juin 1991;22(6):408-10.
- [34] 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.* janv 1995;33(1):31-52.
- [35] G L, Gl S, M M, G B, Gc G. Influence of hemolysis on routine clinical chemistry testing. *Clinical chemistry and laboratory medicine* [Internet]. 2006 [cité 15 sept 2022];44(3). Disponible sur:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16519604/>
- [36] Vaillancourt L, Desharnais B, Goudreau N, Mireault P. Interférence de l'hémoglobine foétale dans la quantification de la carboxyhémoglobine par spectrophotométrie. *Journal of the Canadian Society of Forensic Science.* 1 déc 2015;49:59-68.

- [37] Koseoglu M, Hur A, Atay A, Cuhadar S. Effects of hemolysis interferences on routine biochemistry parameters. *Biochem Med (Zagreb)*. 2011;21(1):79-85.
- [38] G S, W G, W G, E B. Creatine kinase in serum: 2. Interference of adenylate kinase with the assay. *Clinical chemistry [Internet]*. nov 1976 [cité 15 sept 2022];22(11). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/184984/>
- [39] Re W. Mechanism of interference by hemolysis in immunoassays and requirements for sample quality. *Clinical chemistry [Internet]*. déc 1998 [cité 15 sept 2022];44(12). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9836730/>
- [40] Ricós C, Alvarez V, Cava F, García-Lario JV, Hernández A, Jiménez CV, et al. Current databases on biological variation: pros, cons and progress. *Scand J Clin Lab Invest*. nov 1999;59(7):491-500.
- [41] Sonntag O. Haemolysis as an interference factor in clinical chemistry. *J Clin Chem Clin Biochem*. févr 1986;24(2):127-39.
- [42] Jay DW, Provasek D. Characterization and mathematical correction of hemolysis interference in selected Hitachi 717 assays. *Clin Chem*. sept 1993;39(9):1804-10.
- [43] Nauck M, März W, Wieland H. New immunoseparation-based homogeneous assay for HDL-cholesterol compared with three homogeneous and two heterogeneous methods for HDL-cholesterol. *Clin Chem*. juill 1998;44(7):1443-51.

- [44] BROUSSE A. LES PRINCIPALES INTERFERENCES ENDOGENES DANS LES EXAMENS DE BIOCHIMIE CLINIQUE. 1996. book.
- [45] T K, I H. Macrophages and iron trafficking at the birth and death of red cells. *Blood* [Internet]. 5 juill 2015 [cité 15 sept 2022];125(19). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25778532/>
- [46] Levitt DG, Levitt MD. Quantitative assessment of the multiple processes responsible for bilirubin homeostasis in health and disease. *Clin Exp Gastroenterol*. 2014;7:307-28.
- [47] Erlinger S, Arias IM, Dhumeaux D. Inherited disorders of bilirubin transport and conjugation: new insights into molecular mechanisms and consequences. *Gastroenterology*. juin 2014;146(7):1625-38.
- [48] Item 275 : Ictère [Internet]. Quizlet. [cité 15 nov 2022]. Disponible sur: <https://quizlet.com/fr/395224010/item-275-ictere-flash-cards/>
- [49] La bilirubinémie chez les nouveaux nées.pdf [Internet]. [cité 15 nov 2022]. Disponible sur: <http://dspace.univ-bouira.dz:8080/jspui/bitstream/123456789/5321/1/La%20bilirubin%C3%A9mie%20chez%20les%20nouveaux%20n%C3%A9es.pdf>
- [50] F A, K W, Mg S. Conjugated, but not unconjugated, bilirubin negatively interferes in Hitachi 747 assay of inorganic phosphorus. *Clinical chemistry* [Internet]. nov 1993 [cité 15 sept 2022];39(11 Pt 1). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/8222236/>
- [51] Hellara I, Fekih O, Triki S, Elmay A, Neffati F, Najjar MF. La bilirubine interfère-t-elle sur l'électrophorèse capillaire des protéines sériques? *Annales de Biologie Clinique*. 1 janv 2014;72(1):124-8.

- [52] Wykurz G, Kelly D. Developing the role of patients as teachers: literature review. *BMJ*. 12 oct 2002;325(7368):818-21.
- [53] Y A, H I, H N, T A, M Y. Effects of serum bilirubin on determination of uric acid by the uricase-peroxidase coupled reaction. *Clinical chemistry [Internet]*. juill 1992 [cité 15 sept 2022];38(7). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1320471/>
- [54] Lj O, Bg K. Does bilirubin cause interference in Roche creatinine methods? *Clinical chemistry [Internet]*. févr 2007 [cité 15 sept 2022];53(2). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17259257/>
- [55] G D, B M, B J, R M, A C. Extent of bilirubin interference with Beckman creatinine methods. *Annals of clinical biochemistry [Internet]*. janv 2008 [cité 15 sept 2022];45(Pt 1). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18275681/>
- [56] Nikolac N. Lipemia: causes, interference mechanisms, detection and management. *Biochem Med (Zagreb)*. 15 févr 2014;24(1):57-67.
- [57] Garvey WT, Kwon S, Zheng D, Shaughnessy S, Wallace P, Hutto A, et al. Effects of insulin resistance and type 2 diabetes on lipoprotein subclass particle size and concentration determined by nuclear magnetic resonance. *Diabetes*. févr 2003;52(2):453-62.
- [58] Walker PL, Crook MA. Lipaemia: causes, consequences and solutions. *Clin Chim Acta*. 15 mars 2013;418:30-2.
- [59] Grunbaum AM, Gilfix BM, Gosselin S, Blank DW. Analytical interferences resulting from intravenous lipid emulsion. *Clin Toxicol (Phila)*. nov 2012;50(9):812-7.

- [60] Lim KH, Lian WB, Yeo CL. Does visual turbidity correlate with serum triglyceride levels in babies on total parenteral nutrition? *Ann Acad Med Singap.* nov 2006;35(11):790-3.
- [61] Ren T, Cong L, Wang Y, Tang Y, Tian B, Lin X, et al. Lipid emulsions in parenteral nutrition: current applications and future developments. *Expert Opin Drug Deliv.* nov 2013;10(11):1533-49.
- [62] Intralipid: Package Insert / Prescribing Information [Internet]. Drugs.com. [cité 15 sept 2022]. Disponible sur: <https://www.drugs.com/pro/intralipid.html>
- [63] X B, G S, A B, N B. Serum protein electrophoresis by CZE 2000 clinical capillary electrophoresis system. *Clinical chemistry* [Internet]. avr 1998 [cité 15 sept 2022];44(4). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9554485/>
- [64] Kroll MH, McCudden CR. Endogenous Interferences in Clinical Laboratory Tests: Icteric, Lipemic and Turbid Samples [Internet]. *Endogenous Interferences in Clinical Laboratory Tests.* De Gruyter; 2012 [cité 14 sept 2022]. Disponible sur: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/9783110266221/html>
- [65] Mh K. Evaluating interference caused by lipemia. *Clinical chemistry* [Internet]. nov 2004 [cité 15 sept 2022];50(11). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15502078/>

- [66] Nikolac N, Simundic AM, Miksa M, Lima-Oliveira G, Salvagno GL, Caruso B, et al. Heterogeneity of manufacturers' declarations for lipemia interference--an urgent call for standardization. *Clin Chim Acta*. 15 nov 2013;426:33-40.
- [67] Cm de C, Ms N, Mm de C. Interference on the laboratory measurement of bilirubin: the effect of in vitro interactions. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* [Internet]. sept 2009 [cité 15 sept 2022];407(1-2). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/19580796/>
- [68] E GDP, G M, Po S, D P. [Haemolysis and turbidity influence on three analysis methods of quantitative determination of total and conjugated bilirubin on ADVIA 1650]. *Annales de biologie clinique* [Internet]. avr 2008 [cité 15 sept 2022];66(2). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18390427/>
- [69] D M, J S, W C. Effects of hemolysis and lipemia on the COBAS salicylate and acetaminophen assays compared to GDS assays. *Clinical biochemistry* [Internet]. déc 2008 [cité 15 sept 2022];41(18). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18950612/>
- [70] Lyon: Pseudohyponatremia in a myeloma patient: direct... - Google Scholar [Internet]. [cité 15 sept 2022]. Disponible sur: https://scholar.google.com/scholar_lookup?journal=LabMedicine&title=Pseudohyponatremia+in+a+Myeloma+Patient:+Direct+Electrode+Potentiometry+is+a+Method+Worth+its+Salt&author=AW+Lyon&author=LB+Baskin&volume=34&publication_year=2003&pages=357-60&

- [71] Gh K. Pseudohyponatremia: does it matter in current clinical practice? *Electrolyte & blood pressure : E & BP* [Internet]. nov 2006 [cité 15 sept 2022];4(2). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24459491/>
- [72] P F, Ts P. Pseudohyponatremia revisited: a modern-day pitfall. *Archives of pathology & laboratory medicine* [Internet]. avr 2011 [cité 15 sept 2022];135(4). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21466372/>
- [73] De Haene H, Taes Y, Christophe A, Delanghe J. Comparison of triglyceride concentration with lipemic index in disorders of triglyceride and glycerol metabolism. *Clin Chem Lab Med.* 2006;44(2):220-2.
- [74] Kazmierczak: Accurate results in the clinical laboratory:... - Google Scholar [Internet]. [cité 16 sept 2022]. Disponible sur: https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Accurate+Results+in+the+Clinical+Laboratory:+A+Guide+to+Error+Detection+and+Correction&author=SC+Kazmierczak&publication_year=2013&
- [75] Simundic AM, Nikolac N, Ivankovic V, Ferenec-Ruzic D, Magdic B, Kvaternik M, et al. Comparison of visual vs. automated detection of lipemic, icteric and hemolyzed specimens: can we rely on a human eye? *Clin Chem Lab Med.* 2009;47(11):1361-5.
- [76] Smith MB. Hemolysis, icterus, and lipemia/turbidity indices as indicators of inference in clinical laboratory analysis: approved guideline. Wayne, Pa.: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2012.

- [77] Lamola AA, Bhutani VK, Wong RJ, Stevenson DK, McDonagh AF. The effect of hematocrit on the efficacy of phototherapy for neonatal jaundice. *Pediatr Res.* juill 2013;74(1):54-60.
- [78] Reddy PL, Bowie LJ, Callistein S. Binding of nitric oxide to thiols and hemes in hemoglobin H: implications for alpha-thalassemia and hypertension. *Clin Chem.* août 1997;43(8 Pt 1):1442-7.
- [79] Farrell CJL, Carter AC. Serum indices: managing assay interference. *Ann Clin Biochem.* sept 2016;53(Pt 5):527-38.
- [80] Fliser E, Jerkovic K, Vidovic T, Gorenjak M. Investigation of unusual high serum indices for lipemia in clear serum samples on siemens analysers dimension. *Biochem Med (Zagreb).* 2012;22(3):352-62.
- [81] Munnix: Detection of a monoclonal gammopathy by lipemia-i... - Google Scholar [Internet]. [cité 16 sept 2022]. Disponible sur: https://scholar.google.com/scholar_lookup?journal=Ned+Tijdschr+Klin+Chem+Labgeneesk&title=Detection+of+a+monoclonal+gammopathy+by+lipemia-index+measurement&author=ICA+Munnix&author=MTM+Raijmakers&author=WP+Oosterhuis&author=HA+Kleinveld&volume=34&publication_year=2009&pages=248-9&
- [82] Darby D, Broomhead C. Interference with serum indices measurement, but not chemical analysis, on the Roche Modular by Patent Blue V. *Ann Clin Biochem.* mai 2008;45(Pt 3):289-92.

- [83] Dolci A, Panteghini M. Harmonization of automated hemolysis index assessment and use: Is it possible? *Clin Chim Acta*. 15 mai 2014;432:38-43.
- [84] Lippi G, Plebani M, Favaloro EJ. Interference in coagulation testing: focus on spurious hemolysis, icterus, and lipemia. *Semin Thromb Hemost*. avr 2013;39(3):258-66.
- [85] Poupon C, Lefèvre G, Ngo-François S, Alibeu C, Barbé F, Bourbonneux V, et al. Interférence de l'hémolyse sur les examens de biologie médicale utilisés en biochimie d'urgence : étude multicentrique nationale. *Annales de Biologie Clinique*. 1 nov 2015;73(6):705-16.
- [86] Plebani M, Favaloro EJ, Lippi G. Patient safety and quality in laboratory and hemostasis testing: a renewed loop? *Semin Thromb Hemost*. sept 2012;38(6):553-8.
- [87] Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI):... - Google Scholar [Internet]. [cité 16 sept 2022]. Disponible sur: https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Hemolysis,+Icterus,+and+Lipemia/Turbidity+Indices+as+Indicators+of+Interference+in+Clinical+Laboratory+Analysis;+Approved+Guideline&publication_year=2012 &
- [88] 14:00-17:00. ISO 15189:2012 [Internet]. ISO. [cité 10 déc 2022]. Disponible sur: <https://www.iso.org/standard/56115.html>

- [89] Thelen MHM, Vanstapel FJLA, Kroupis C, Vukasovic I, Boursier G, Barrett E, et al. Flexible scope for ISO 15189 accreditation: a guidance prepared by the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group Accreditation and ISO/CEN standards (WG-A/ISO). *Clin Chem Lab Med.* juill 2015;53(8):1173-80.
- [90] Miller WG, Ereš A, Cunningham TD, Oladipo O, Scott MG, Johnson RE. Commutability limitations influence quality control results with different reagent lots. *Clin Chem.* janv 2011;57(1):76-83.
- [91] Lippi G, Lima-Oliveira G, Brocco G, Bassi A, Salvagno GL. Estimating the intra- and inter-individual imprecision of manual pipetting. *Clin Chem Lab Med.* 27 juin 2017;55(7):962-6.
- [92] Nikolac Gabaj N, Miler M, Vrtarić A, Hemar M, Filipi P, Kocijančić M, et al. Precision, accuracy, cross reactivity and comparability of serum indices measurement on Abbott Architect c8000, Beckman Coulter AU5800 and Roche Cobas 6000 c501 clinical chemistry analyzers. *Clin Chem Lab Med.* 25 avr 2018;56(5):776-88.
- [93] Lippi G, Cadamuro J, von Meyer A, Simundic AM, European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE). Practical recommendations for managing hemolyzed samples in clinical chemistry testing. *Clin Chem Lab Med.* 25 avr 2018;56(5):718-27.

- [94] Lippi G, Cadamuro J, von Meyer A, Simundic AM, European Federation of Clinical Chemistry, Laboratory Medicine (EFLM) Working Group, et al. Local quality assurance of serum or plasma (HIL) indices. Clin Biochem. avr 2018;54:112-8.
- [95] Lippi G, Ippolito L, Favaloro EJ. Technical Evaluation of the Novel Preanalytical Module on Instrumentation Laboratory ACL TOP: Advancing Automation in Hemostasis Testing. SLAS Technology. oct 2013;18(5):382-90.
- [96] Simundic AM, Nikolac Gabaj N, Guder W. Preanalytical variation and preexamination processes. In 2017. p. 81-120.
- [97] Dimeski G. Interference Testing. Clin Biochem Rev. août 2008;29(Suppl 1):S43-8.
- [98] « Westgard Rules » and Multirules - Westgard [Internet]. [cité 11 déc 2022]. Disponible sur: <https://www.westgard.com/mltirule.htm>
- [99] C24: Statistical Quality Control for Quantitative Measurement Procedures: Principles and Definitions. :13.
- [100] Vaubourdolle M. Recommandations pour l'accréditation des laboratoires de biologie médicale: Volume 2, Phase post-analytique, Biologie délocalisée. John Libbey Eurotext; 2012. 272 p.
- [101] Dimeski G. Effects of hemolysis on the Roche ammonia method for Hitachi analyzers. Clin Chem. mai 2004;50(5):976-7.
- [102] Wabel C. Influence of Lecithin on Structure and Stability of Parenteral Fat Emulsions. vl. nákl.; 1998. 202 p.

- [103] Bornhorst JA, Roberts RF, Roberts WL. Assay-specific differences in lipemic interference in native and intralipid-supplemented samples. *Clin Chem.* nov 2004;50(11):2197-201.
- [104] Hortin GL, Goolsby K. Lipemia interference with a rate-blanked creatinine method. *Clin Chem.* févr 1997;43(2):408-10.
- [105] Aslan B, Stemp J, Catomeris P, Allen LC, Kerekes R, Gun-Munro J. Clinical chemistry sample interferences reporting patterns in Ontario laboratories. :1.
- [106] Farrell CJL, Carter AC. Hemolysis Interference: Are Laboratories Getting the Information They Need? *Clinical Chemistry.* 1 sept 2016;62(9):1274-6.
- [107] Fraser CG. Test result variation and the quality of evidence-based clinical guidelines. *Clin Chim Acta.* 2 août 2004;346(1):19-24.
- [108] Fraser DCG. *Biological Variation: From Principles to Practice.* 2006;54.
- [109] Vassault A, Grafmeyer D, Graeve J de, Cohen R, Beaudonnet A, Bienvenu J. Analyses de biologie médicale : spécifications et normes d'acceptabilité à l'usage de la validation de techniques. *Annales de Biologie Clinique.* 24 nov 1999;57(6):685-95.
- [110] Ricós C, Cava F, García-Lario JV, Hernández A, Iglesias N, Jiménez CV, et al. The reference change value: a proposal to interpret laboratory reports in serial testing based on biological variation. *Scand J Clin Lab Invest.* 2004;64(3):175-84.
- [111] Fraser CG. Reference change values. *Clin Chem Lab Med.* 30 sept 2011;50(5):807-12.

- [112] Despinasse Q. Élaboration et mise en œuvre des vérifications de méthodes lors d'un renouvellement d'automates: exemple de l'unité de biochimie immunoanalyse du CHU Grenoble Alpes.
- [113] Calmarza P, Cordero J. Lipemia interferences in routine clinical biochemical tests. *Biochem Med (Zagreb)*. 2011;21(2):160-6.
- [114] Dimeski G, Jones BW. Lipaemic samples: effective process for lipid reduction using high speed centrifugation compared with ultracentrifugation. *Biochem Med (Zagreb)*. 2011;21(1):86-92.
- [115] Sharma A, Anderson K, Baker JW. Flocculation of serum lipoproteins with cyclodextrins: application to assay of hyperlipidemic serum. *Clin Chem*. mars 1990;36(3):529-32.
- [116] Vermeer HJ, Steen G, Naus AJM, Goevaerts B, Agricola PT, Schoenmakers CHH. Correction of patient results for Beckman Coulter LX-20 assays affected by interference due to hemoglobin, bilirubin or lipids: a practical approach. *Clin Chem Lab Med*. 2007;45(1):114-9.
- [117] Saracevic A, Nikolac N, Simundic AM. The evaluation and comparison of consecutive high speed centrifugation and LipoClear® reagent for lipemia removal. *Clin Biochem*. mars 2014;47(4-5):309-14.
- [118] Cadamuro J, Lippi G, von Meyer A, Ibarz M, van Dongen E, Lases5, et al. European survey on preanalytical sample handling - Part 1: How do European laboratories monitor the preanalytical phase? On behalf of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for the Preanalytical Phase (WG-PRE). *Biochem Med (Zagreb)*. 15 juin 2019;29(2):020704.

- [119] Cadamuro J, Lippi G, von Meyer A, Ibarz M, van Dongen E, Lases5, et al. European survey on preanalytical sample handling - Part 2: Practices of European laboratories on monitoring and processing haemolytic, icteric and lipemic samples. On behalf of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for the Preanalytical Phase (WG-PRE). *Biochem Med (Zagreb)*. 15 juin 2019;29(2):020705.
- [120] Ali D, Sacchetto É, Reigner A, Carrer DL, Orsonneau JL, Delaroche O, et al. Interférences de la lipémie et de l'ictère sur le dosage de 24 paramètres biochimiques. *Annales de Biologie Clinique*. 1 nov 2015;73(6):671-89.
- [121] Glick MR, Ryder KW, Jackson SA. Graphical comparisons of interferences in clinical chemistry instrumentation. *Clin Chem*. mars 1986;32(3):470-5.
- [122] Oddoze C, Lombard E, Portugal H. Stability study of 81 analytes in human whole blood, in serum and in plasma. *Clin Biochem*. avr 2012;45(6):464-9.
- [123] Desirable Biological Variation Database specifications - Westgard [Internet]. [cité 16 janv 2023]. Disponible sur: <https://www.westgard.com/biodatabase1.htm>
- [124] Nishiyama K, Tsutamoto T, Yamaji M, Kawahara C, Fujii M, Yamamoto T, et al. Biological variation of brain natriuretic peptide and cardiac events in stable outpatients with nonischemic chronic heart failure. *Circ J*. 2011;75(2):341-7.



Serment de Galien

Je jure en présence des maîtres de cette faculté :

D'honorer ceux qui m'ont instruite dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé publique, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisée de mes confrères si je manquais à mes engagements.



قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

أقسم بالله العظيم

أن أراقب الله في مهنتي

أن أجدل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوماً وفيًا لتعاليمهم.

أن أزال مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأتأقصر أبداً في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.

أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترف.

أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.

لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أفي بالتزاماتي.

والله على ما أقول شهيد.



المملكة المغربية
جامعة محمد الخامس بالرباط
كلية الطب والصيدلة
الرباط



أطروحة رقم: 25

سنة : 2023

تدخلات انحلال الدم واليرقان والدهون في المقاييسات البيوكيميائية

أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم : 2023/ /

من طرف

السيدة فاطمة الزهراء شريفي

المزودة في 13 مارس 1998 بصفرو

لنيل شهادة

دكتور في الصيدلة

الكلمات الأساسية : انحلال الدم؛ اليرقان؛ الدهون؛ التدخلات

أعضاء لجنة التحكيم:

رئيس	السيد علي أبو زاهير أستاذ في الطب الباطني
مشرفة	السيدة سناء بوحسايين أستاذة في الكيمياء الحيوية والكيمياء
عضو	السيد عبد الله دامي أستاذ في الكيمياء الحيوية والكيمياء
عضو	السيد عز العرب مسرار أستاذ في علم الدم البيولوجي
عضوة	السيدة سميرة المشطاني الإدريسي أستاذة في الكيمياء الحيوية والكيمياء