



UNIVERSITE SIDI MOHAMED BEN ABDELLAH
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE

Projet de Fin d'Etudes

Licence Sciences & Techniques
Sciences Biologiques Appliquées et Santé
(LST - SBAS)

**Interférences de l'hémolyse, ictère, lipémie et biotine
sur le dosage des paramètres de routine dans un
laboratoire de biologie clinique**

Présenté par : Aarab Bouchra

Encadré par : Pr Bencheikh Rachid

Dr Kettani Tayeb

Soutenu le : 06 /07/2021

Devant le jury composé de :

- **Pr Bencheikh Rachid**
- **Dr Kettani Tayeb**
- **Pr Guissi Sanae**

Stage effectué à : Laboratoire d'analyses médicales Saada
Année universitaire 2020-2021

Remerciements :

Je tiens à remercier vivement le **Docteur Kettani Tayeb** d'avoir accepté de m'accueillir au sein de son laboratoire d'analyses médicales "Saada", de m'avoir fait confiance pour ce sujet afin de m'initier à la recherche scientifique et de m'avoir consacré beaucoup de temps pour les corrections.

Je voudrais remercier le **Professeur Bencheikh Rachid** pour tous les conseils avisés qu'il m'a conférés, et pour ses efforts de près et de loin, pour les moyens et l'assistance nécessaire à la réalisation de mon travail.

Je voudrais également remercier **Pr Guissi Sanae** pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'examiner mon sujet comme membre de jury, et pour ses remarques utiles.

Mes remerciements s'adressent également à toute l'équipe du laboratoire "**Sarioui Aicha, Abbassi Souhayla et El Khachani Ibtissam**" pour leurs disponibilité, leur patience et leur persévérance ainsi que pour leurs précieux conseils.

Que tous ceux qui m'ont aidé, de près et de loin à mener à bout ce travail, trouvent ici l'expression de ma reconnaissance extrême et ma profonde gratitude.

Sommaire :

Présentation de laboratoire d'analyses médicales "Saada" 6

Chapitre I : Recherche bibliographique

I.	Introduction.....	7
II.	Hémolyse	
	1. Echantillon hémolysé.....	8
	2. Surcharge en hémoglobine des échantillons plasmatiques.....	9
	3. Signification d'interférence de l'hémolyse.....	10
	4. Détermination du seuil hémolytique.....	10
III.	Ictère	
	1. Echantillon ictérique.....	11
	2. Surcharge en bilirubine des échantillons plasmatiques.....	11
	3. Signification d'interférence de l'ictère.....	12
	4. Détermination du seuil ictérique.....	12
IV.	Lipémie	
	1. Echantillon lipémique.....	13
	2. Surcharge en intralipide des échantillons plasmatiques.....	13
	3. Signification d'interférence de la lipémie.....	14
	4. Détermination de seuil lipémique.....	14
	5. Exemple.....	15
V.	Interférences	
	1. Les paramètres biologiques sensiblement influencés par l'hémolyse.....	16
	2. Les paramètres biologiques sensiblement influencés par l'ictère.....	16
	3. Les paramètres biologiques influencés par la lipémie.....	16
VI.	La biotine	
	1. Définition.....	17
	a) Structure moléculaire.....	17
	b) Formule brute.....	17
	c) Température de fusion.....	17
	2. Les médicaments qui contiennent de la biotine.....	18
	3. Les doses de biotine qui peuvent être ingérées.....	18
	4. Effets indésirables.....	18

5. Les valeurs physiologiques normales de la biotine.....	18
6. La pharmacocinétique de la biotine.....	18
7. Interférence dans les immunodosages.....	19
8. Interférence de biotine sur le dosage de TSH.....	20
9. Exemples.....	21

Chapitre II : Matériels et méthodes

1. Population étudiée.....	24
2. Tubes utilisés.....	24
3. Etapes de travail.....	24
a) Centrifugation.....	24
b) Mesure de la valeur d'aspect.....	24
4. Explication.....	26
5. Exemple pour hémolyse.....	26
6. Exemple pour ictère.....	27
7. Exemple pour lipémie.....	27

Chapitre III : Résultats et discussion

Résultats et discussion.....	28
Conclusion.....	29
Références.....	30

Liste d'abréviation :

AC anti-VHc: Hépatite C

ACE: Antigène carcino-embryonnaire

AFP: Alpha-foetoprotéine

Antigène HBs : marqueur diagnostique de l'infection par le virus de l'hépatite B

Beta HCG: Hormone chrionique gonadotrope

CA 125 : Carbohydrate antigène 125

CA 15-3 : Marqueur du cancer tumoral

CA 19-9 : Marqueur du cancer tumoral

CMV IgG: Cytomégalovirus immunoglobuline G

CMV IgM: Cytomégalovirus immunoglobuline M

HIV : Virus immunodéficience humain

NT-pro-BNP : marqueur d'insuffisance cardiaque

PSA : Antigène prostatique spécifique

PTH: Parathormone

T3L : Triiodothyronine libre

T4L : Thyroxine libre

TSH : hormone thyroïdostimuline

Vit B12: Vitamine B12

Vit D total: Vitamine D total

Introduction générale

La chimie clinique est une science quantitative qui s'intéresse à la mesure de quantités de substances importantes d'un point de vue biologique dans les liquides organiques. Les méthodes permettant de mesurer ces substances sont conçues avec soin en vue de fournir des évaluations exactes de leur concentration. Les résultats des dosages sont comparés à des intervalles de référence afin d'obtenir une signification diagnostique et clinique de ces valeurs. Lorsque la valeur obtenue pour un test se situe en dehors de l'intervalle de référence attendu, le résultat inhabituel sert de signal, révélant l'existence d'un problème.

Lors de ce travail l'objectif est d'étudier quatre facteurs interférents les plus courants dans un échantillon de sérum ou de plasma à savoir : l'hémolyse, l'ictère, la lipémie et la biotine.

Nous procéderons en exposant les principaux mécanismes d'interférences, en détaillant les matériaux et la méthode utilisés, en identifiant et en quantifiant les interférences dues à ces substances visibles (pour l'hémolyse, l'ictère, et la lipémie) et invisibles (pour la biotine) puis en discutant de la conduite à tenir lors la détection d'un échantillon présentant une de ces caractéristiques.

Présentation de laboratoire Saada

Le laboratoire Saada d'analyses médicales est mis en service depuis le mois Aout 2010 par son dirigeant **Docteur Kettani Tayeb** qui a un :

- Diplôme de Pharmacien de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de l'université de Bruxelles(U.L.B)
- Diplôme des études spécialisées en Analyses Biologiques et Cliniques (Bruxelles U.L.B)
- Ancien membre du Corps Scientifique (Enseignant et Chercheur) à la faculté de Médecine et de Pharmacie Bruxelles(U.L.B)
- Diplôme universitaire en Procréation Médicale Assistée (Montpellier, UM₁)
- Diplôme universitaire en Management de la qualité pour les professionnels et acteurs de la santé (Université de Bordeaux)

Ce laboratoire est situé au quartier Zaza, avenue Saint Louis, rue Sindiane, N°82, Saada, Fès. Il réalise les analyses de biologie médicale suivantes :

- Hématologie
- Biochimie
- Bactériologie
- Biologie de la reproduction
- Parasitologie
- Mycologie
- Toxicologie
- Auto-immunité (IFI)
- Test d'allergie

Ce laboratoire est composé :

- du rez-de-chaussée qui englobe la salle d'accueil des patients et deux salles de prélèvement du sang
- d'un premier étage qui renferme le bureau du médecin, une salle d'Hémo-Chimie, et une salle de Bactériologie
- d'un deuxième étage qui contient une laverie, un vestiaire, et des toilettes

Chapitre I : Recherche bibliographique

I. Introduction :

La biologie médicale désigne une spécialité qui a recourt à des techniques de laboratoire (analyse, microscopie, immunologie, bactériologie, virologie, sérologie, hématologie) pour contribuer notamment à l'évolution de l'état de de santé, au diagnostic de pathologies, et au suivi des traitements...

Elle demande la maitrise des techniques pour une interprétation biologique juste et précise, pour cela , il faut éviter toute source d'erreur qui peut entrainer un résultat erroné conduisant à de mauvaises interprétations, un mauvais diagnostic, et éviter aussi la répétition des analyses prises en charge par le patient (surcoût)

Il existe trois phases pour la réalisation d'une analyse quelconque. D'abord, **la phase pré-analytique** qui couvre toutes les étapes qui précèdent l'analyse et qui peuvent influencer les résultats. Il s'agit en particulier des prélèvements, de la conservation et du transport des échantillons. Ensuite, **la phase analytique** qui correspond au processus technique permettant l'obtention d'un résultat d'analyse biologique. Et enfin, **la phase post analytique** qui couvre toutes les étapes qui suivent l'analyse, jusqu'à la transmission des résultats au prescripteur .Il s'agit en particulier de l'enregistrement des résultats, de la validation technique et biologique, avec, si besoin adjonction de commentaires sur la qualité de l'échantillon, de la transmission des résultats, ainsi que le stockage des échantillons analysés. [1]

Actuellement la part prépondérante des erreurs concerne la phase pré-analytique.

On peut distinguer parmi les erreurs, celles que l'on peut corriger :

- L'identification des échantillons (absente, incomplète, ou erronée)
- Remplissage incorrect des tubes
- Tubes mal positionnés
- Délai entre prélèvement et réception au laboratoire trop important

Les erreurs que l'on ne peut pas corriger sont : l'hémolyse, l'ictère, et la lipémie

II. Hémostase :

L'hémolyse est la destruction des globules rouges (érythrocytes) présents dans le sang, elle peut interférer avec les dosages réalisés en laboratoire. Ces interférences sont dues à la libération dans le sérum ou le plasma de constituants présents dans les globules rouges (hémoglobine, bilirubine, les enzymes érythrocytaires....) [2]

1. Echantillon hémolysé

Il s'agit d'un échantillon dont le sérum ou le plasma est coloré en rouge orangé plus ou moins fortement selon le degré de l'hémolyse. [2]

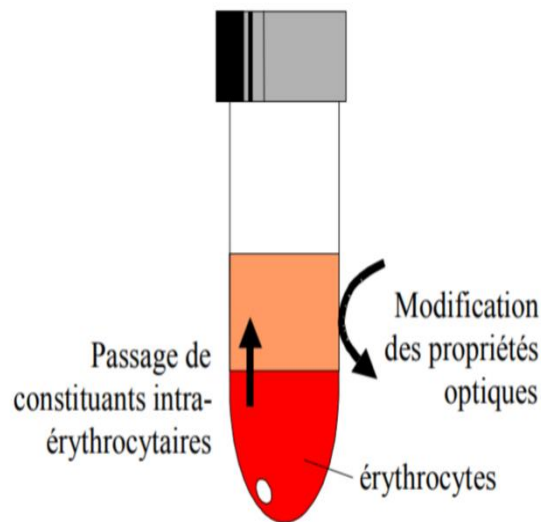


Figure 1 : Echantillon hémolysé

Suite aux interférences franches rencontrées dans ce cas d'hémolyse, **le fabricant Roche** a réalisé des tests de surcharge avec des concentrations croissantes d'hémoglobine afin de déterminer à partir de quelle concentration, les résultats étaient faussés, et il a constaté que le résultat avec surcharge était sujet à interférence lorsqu'il était modifié de 10% par rapport au résultat initial sans surcharge.

2. Surcharge en hémoglobine des échantillons plasmatiques :

La méthode de surcharge en hémoglobine consiste à réaliser à partir de l'hémolysat décongelé une gamme de concentration en hémoglobine variant de **0 à 2000 $\mu\text{mol/l}$** soit de **0 à 32,2 g/l**. Chaque point de cette gamme de concentration en hémoglobine est additionné à des plasmas de concentration variable pour chacun des paramètres étudiés. [3]

La corrélation entre l'indice d'hémolyse et la concentration en hémoglobine exprimée en $\mu\text{mol/l}$ fournit une droite de pente ($a=0,8952$) et d'ordonnée à l'origine ($b=21,06$) avec un coefficient de corrélation ($r=0,999$). [3]

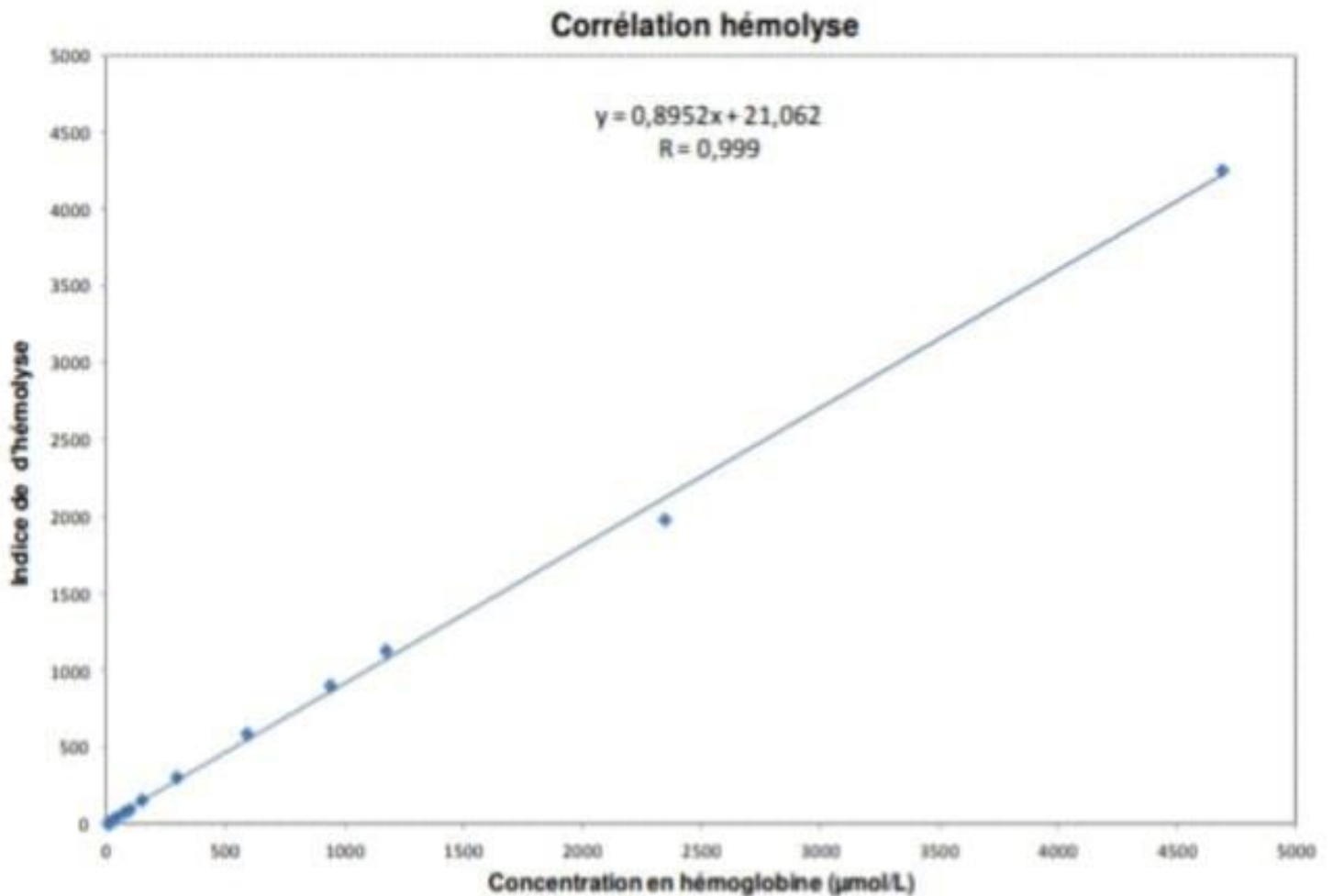


Figure 2 : Corrélation entre la concentration en hémoglobine et l'indice d'hémolyse

3. Quand juger que la différence entre ajout/pas d'ajout d'hémoglobine est significative ?

La différence entre ajout et pas d'ajout est considérée **non significative** lorsqu'aucune modification du résultat n'a été observée, alors qu'elle est **significative** dès que les résultats étaient faussés par la plus faible concentration en hémoglobine ajoutée. [3]

4. Détermination du seuil hémolytique

La limite de **10%** de variation a été choisie pour définir une influence de l'hémolyse sur la mesure. [3]

III. Ictère :

Cette situation est due à une augmentation anormale de la bilirubine, composé ayant une coloration brunâtre. (**La bilirubine est le produit de dégradation normal de l'hémoglobine contenue dans les globules rouges**) [2]

1. Echantillon ictérique :

Il s'agit d'un échantillon dont le plasma ou le sérum a perdu sa couleur normale jaune paille, en virant vers le jaune foncé, brun ou verdâtre. [2]

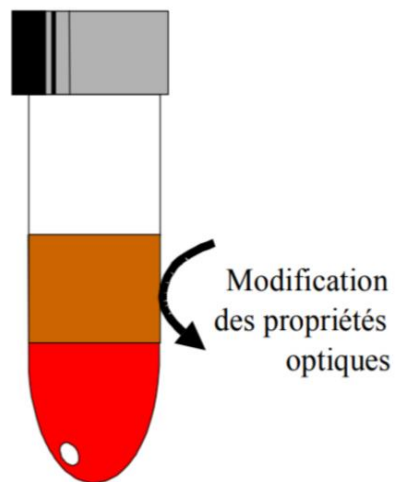


Figure 3 : Echantillon ictérique

2. Surcharge en bilirubine des échantillons plasmatiques

La méthode de surcharge en bilirubine consiste à réaliser à partir d'une solution de ditaurate de bilirubine une gamme de concentration de **50 à 1600 $\mu\text{mol/l}$** . Chaque concentration de cette gamme est ajoutée à des plasmas de concentration variable pour chacun des paramètres étudiés. [3]

La corrélation entre l'indice d'ictère et la concentration en ditaurate de bilirubine exprimée en $\mu\text{mol/l}$ fournit une droite de pente ($a=0,989$) et d'ordonnée à l'origine ($b=37,58$) avec pour coefficient de corrélation ($r=0,996$) [3]

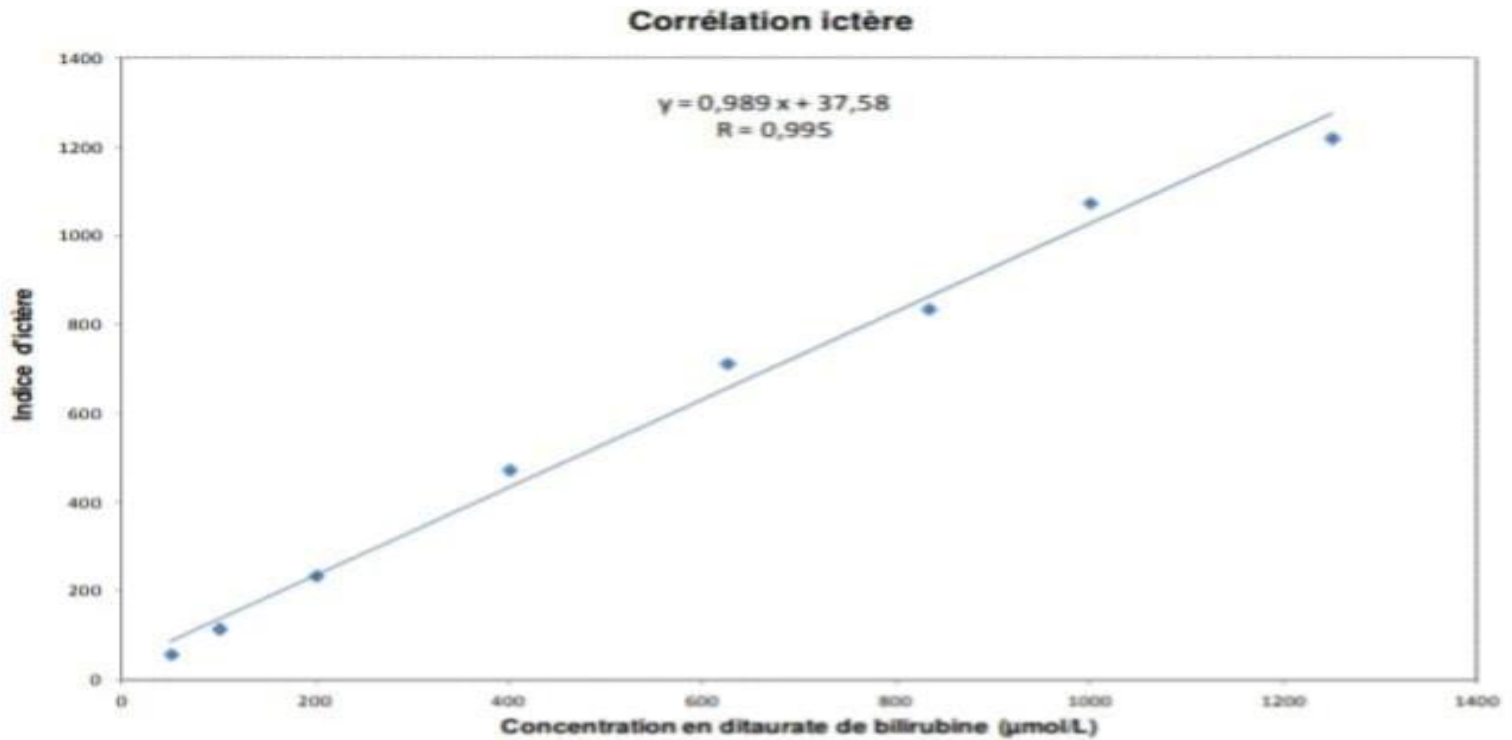


Figure 4 : Corrélation entre la concentration de ditaurate de bilirubine et l'indice d'ictère

3. Quand juger que la différence entre ajout/pas d'ajout est significative ?

La différence entre ajout et pas d'ajout est considérée **non significative** lorsqu'aucune modification du résultat n'a été observée, alors qu'elle est **significative** dès que les résultats étaient faussés par la plus faible concentration en bilirubine ajoutée. [3]

4. Détermination du seuil ictérique

Critère d'acceptabilité : 10% de la valeur initiale [4]

IV. Lipémie

La lipémie est provoquée le plus souvent par une augmentation de la concentration des triglycérides qui peut être en rapport avec l'alimentation, une anomalie du métabolisme lipidique ou bien une perfusion des lipides. [2]

1. Echantillon lipémique

Il s'agit d'un échantillon dont le sérum ou le plasma a un aspect trouble, translucide ou laiteux dû à l'augmentation des lipides [2]

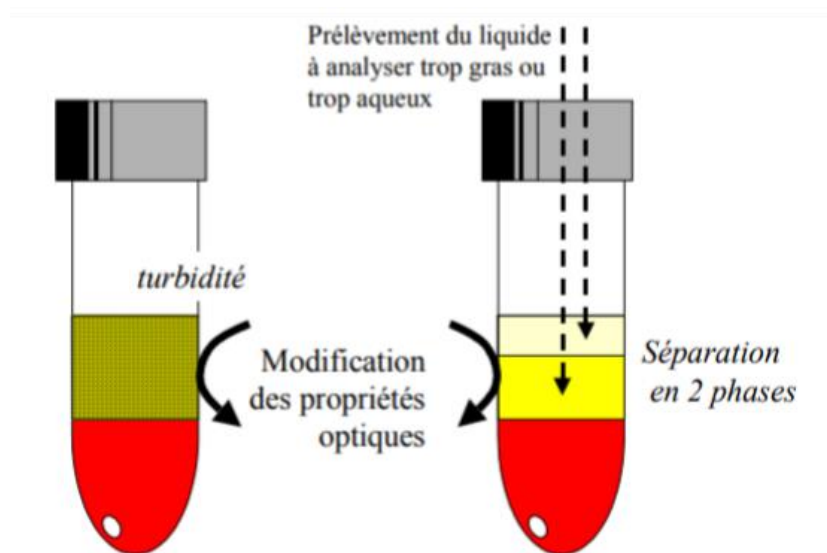


Figure 5 : Echantillon lipémique

2. Surcharge en intralipide des échantillons plasmatiques

La méthode de surcharge en intralipide consiste à réaliser à partir d'une solution d'intralipide 20% une gamme de concentration variant de **0 à 2500 mg/dl**. L'indice de lipémie est déterminé sur des échantillons de la gamme d'intralipide. Chaque concentration de cette gamme est ajoutée à des plasmas de concentration variable pour chacun des paramètres étudiés. [3]

La corrélation entre l'indice de lipémie et la concentration en intralipid exprimée en mg/dl fournit une droite de pente ($a=0,996$) et d'ordonnée à l'origine ($b= -41$) avec un coefficient de corrélation ($r=0,998$) [3]

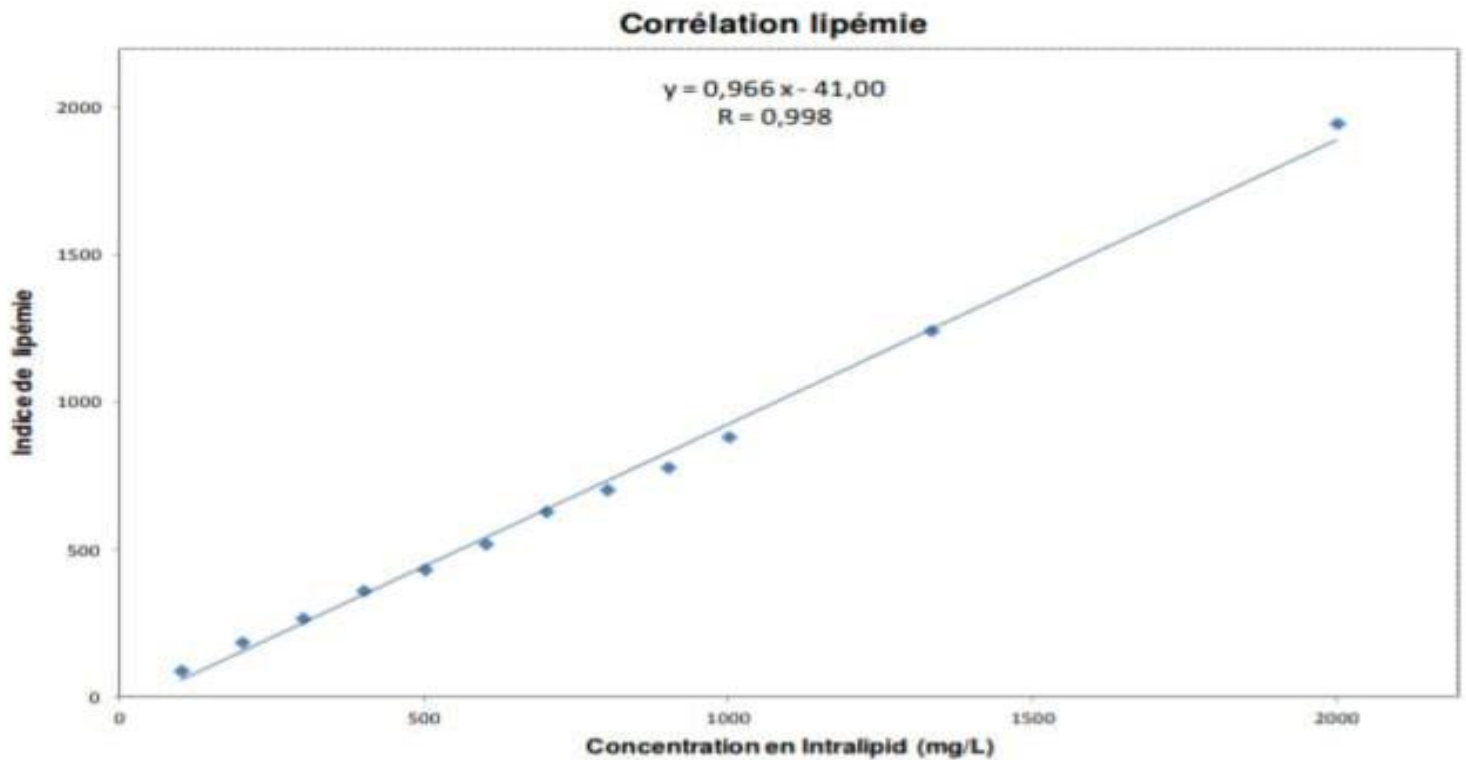


FIGURE 6 : Corrélation entre la concentration en intralipide et l'indice de lipémie

3. Quand juger que la différence entre ajout/pas d'ajout est significative ?

La différence entre ajout et pas d'ajout est considérée **non significative** lorsqu'aucune modification du résultat n'a été observée, alors qu'elle est **significative** dès que les résultats étaient faussés par la plus faible concentration en intralipide ajoutée. [3]

4. Détermination du seuil lipémique

Critère d'acceptabilité : 10% de la valeur initiale [4]

Exemple :

Glycémie

D'après le pharmacien Ali Damien (2014-2015) [3]

- **Quand agit l'hémolyse sur le dosage de glycémie ?**

Aucune interférence n'est observée jusqu'à un indice **H** de **1000 mg/dl**

- **Quand agit l'ictère sur le dosage de glycémie ?**

Aucune interférence n'est observée jusqu'à un indice **I** de **60 mg/dl**

- **Quand agit la lipémie sur le dosage de glycémie ?**

Aucune interférence n'est observée jusqu'à un indice **L** de **1000 mg/dl [3]**

D'après le fabricant Roche (2017) [4]

- **Quand agit l'hémolyse sur le dosage de glycémie ?**

Aucune interférence n'est observée jusqu'à un indice **H** de **1200 mg/dl**

- **Quand agit l'ictère sur le dosage de glycémie ?**

Aucune interférence n'est observée jusqu'à un indice **I** de **60 mg/dl**

- **Quand agit la lipémie sur le dosage de glycémie ?**

Aucune interférence n'est observée jusqu'à un indice **L** de **1900 mg/dl [4]**

V. Interférences : [4]

1. Pour l'hémolyse :

Les paramètres sensibles sont : Aspartate-amino-transférase, cholestérol total, créatine kinase, créatinine, lactate déshydrogénase, magnésium, phosphore, protéines totales, triglycérides, sodium, potassium, chlore, bilirubine totale, bilirubine directe, acide urique. alanine-amino-transférase, gamma glutamyl-transférase, lipase, phosphatase alcaline, troponine T hypersensible,

2. Pour l'ictère :

Les paramètres sensibles sont : Créatinine, cholestérol total, HDL cholestérol, phosphatase alcaline, protéines totales, triglycérides.

3. Pour la lipémie :

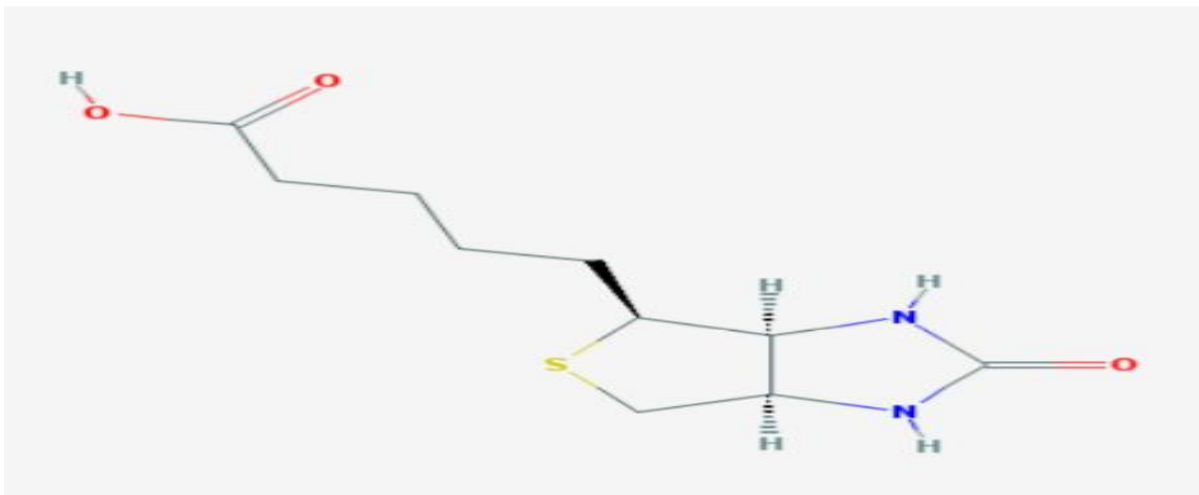
Les paramètres sensibles sont : Alanine-amino-transférase, albumine, aspartate-amino-transférase, magnésium.

VI. La biotine :

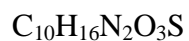
1. Définition :

La biotine ou la vitamine B8, également appelée vitamine H, est une molécule hydrosoluble qui joue un rôle essentiel dans la production d'énergie à partir des nutriments, ainsi que dans la synthèse d'acides gras et des acides aminés .Elle est à la fois apportée par l'alimentation(Les pois, les haricots, le foie, le soja, la levure de bière...) et fabriquée par la flore intestinale. Elle contribue au maintien des cheveux, de la peau, et de muqueuses normales.

a) Structure moléculaire : [5]



b) Formule brute de la biotine : [5]



c) Température de fusion de la biotine : [5]

231-233 °C

2. Les médicaments qui contiennent de la biotine :

ALVITYL, AZINC COMPLEXE, BEROCCA, BEROCCA S/S, BIOTINE BAYER, BIOTINE ROCHE, CERENDAY, CERNEVIT, QIZENDAY, SOLUVIT, SUPRADYNE, SURVITINE ...

3. Les doses de biotines qui peuvent être ingérées: [4]

Les apports nutritionnels conseillés sont de **50µg** par jour (**0,05 mg**) et une alimentation équilibrée couvre normalement les besoins.

Lorsqu'elle est utilisée pour soigner des problèmes de peau ou d'ongles, la biotine est habituellement prescrite à la dose de **15mg** par jour (3 comprimés par jour pendant 6 semaines).

4. Effets indésirables

Des manifestations d'hypersensibilité d'allure allergique, principalement cutanées (urticaire, angioedème, prurit ...)

5. Les valeurs physiologiques normales de biotine : [4]

La biotine est dosée par l'analyse d'un prélèvement sanguin ponctionné par une simple prise de sang. Si les valeurs de référence peuvent varier en fonction de la méthode de dosage, elles sont généralement comprises entre **0,5 et 3,3 nmol/l**

6. La pharmacocinétique de la biotine : [4]

La demi-vie de la biotine varie de **8 à 19 heures**.

Puisque la biotine est toujours absorbée par voie orale (Per Os), alors la quantité de médicament qui atteint la circulation générale est en fonction :

- de la quantité absorbée par l'épithélium digestif

- processus d'élimination pré-systémique

7. Interférences dans les immunodosages : [6]

Certaines techniques d'immunodosages utilisent le complexe streptavidine-anticorps biotinylés. Ces dosages sont soumis à interférences en particulier avec la prise de biotine.

La biotine est utilisée dans le traitement de certaines métaboliques génétiques, troubles du métabolisme énergétique mitochondrial, et plus récemment à fortes doses dans la sclérose en plaque. Elle est disponible sans ordonnance comme complément alimentaire, parfois à doses élevées.

Des concentrations supra-physiologiques sériques en biotine peuvent induire des interférences dans les dosages biologiques.

‘Il est de ce fait impératif d'informer le laboratoire de la prise éventuelle de biotine lors de la prescription d'analyses biologiques afin d'évaluer les analyses pouvant interférer avec le traitement ‘

Tableau 1 : Les paramètres influencés par la biotine et les conséquences d'interférences [6]

Paramètre	Conséquences potentielles en cas de concentrations élevées de biotine
ACE Alpha-fœtoprotéine Antigène HBs Ac anti-HBc Ac anti-VHC CA 125 CA 15-3 CA 19-9 CMV (IgG et IgM) β-hCG HIV NT-pro-BNP Procalcitonine PSA (total et libre) PTH Rubéole Syphilis Toxoplasmose (IgG et IgM) Troponine TSH	Résultats faussement abaissés
Ac anti-HBc totaux Cortisol Folates plasmatiques T3L T4L Vitamine B12 Vitamine D totale	Résultats faussement augmentés

8. Interférence de biotine sur le dosage de TSH :

Principe de dosage de TSH :

Méthode "Sandwich" [4]

Durée totale du cycle analytique : **18 minutes**

- **1 ère incubation** : 50 µl d'échantillon sont mis en présence d'un anticorps monoclonal **anti-TSH biotinylé** et d'un anticorps monoclonal **anti-TSH ruthénylé**. Il se forme un sandwich.
 - **2 ème incubation** : les microparticules tapissées de streptavidine sont ajoutées dans la cuvette réactionnelle. Le complexe immun est fixé à la phase solide par **une liaison streptavidine-biotine**.
 - Le mélange réactionnel est aspiré dans la cellule de mesure où les microparticules sont maintenues au niveau de la surface de l'électrode par un aimant. L'élimination de la fraction libre est effectuée par le passage de **ProCell** ou **ProCell M**. Une différence de potentiel appliquée à l'électrode déclenche la production de luminescence qui est mesurée par un photomultiplicateur.
 - Les résultats sont obtenus à l'aide d'une courbe de calibration. Celle-ci est générée spécifiquement par l'analyseur utilisé pour une calibration en 2 points et une courbe de référence mémorisée dans l'étiquette code-barres ou le e-code-barres du réactif.
- [4]



Figure 4 : Principe du dosage de TSH

Lors d'une interférence due à la biotine :

La biotine exogène prenant alors la place des anticorps biotinylés du dosage sur la streptavidine des microparticules, ce qui provoque une baisse de signal. Cette diminution de signal est alors faussement interprétée comme une diminution de la concentration de l'analyte. [7]

9. Exemples :

Exemple 1 :

Observation

Une patiente âgée de 70 ans, atteinte d'une sclérose en plaque, était adressée en consultation pour une hyperthyroïdie. Elle présentait une TSH diminuée et des hormones thyroïdiennes périphériques (T3-T4) très élevées, alors que l'examen clinique ne trouvait aucun signe d'hyperthyroïdie (asthénie, amaigrissement, sueurs, palpitations, irritabilité, troubles du sommeil)

Discussion

La patiente était hospitalisée suite à un bref épisode de trouble de conscience spontanément résolutif. Le bilan étiologique était négatif. Un premier bilan thyroïdien était réalisé 17 jours avant la consultation, à son entrée en hospitalisation. Il trouvait une TSH abaissée à **0,012 mUI/l** (N= **0,36 – 3,74**), une T3 et une T4 très élevées, respectivement supérieures à **46 pmol/l** (N=**3,3 – 6,1**) et à **103 pmol/l** (N= **9,8 – 18,8**). Le dosage n'avait pas été précédé par la réalisation d'injection de produit de contraste iodé.

Le bilan était contrôlé 6 jours plus tard. La TSH était normalisée à **1,91 mUI/l**, tout comme la T3 à **6 pmol/l** et la T4 à **13 pmol/l**. Les anticorps anti-récepteurs de la TSH et les anticorps anti-thyroglobuline étaient négatifs. L'ordonnance habituelle de la patiente n'avait pas été modifiée ni pendant, ni après l'hospitalisation.

Un nouveau contrôle était réalisé 3 jours plus tard alors que la patiente était sortie d'hospitalisation depuis 2 jours. Il trouvait une TSH diminuée à **0,022 mUI/l**, une T3 augmentée à **10,35 pmol/l** et une T4 augmentée à **76,4 ng/l** (N= **11,93 – 21,81**). Il s'agissait du dernier bilan réalisé avant la consultation d'endocrinologie et il était à nouveau évocateur d'une hyperthyroïdie.

L'antécédent de sclérose en plaque amenait à rechercher une prise biotine, que la patiente confirmait prendre depuis environ 6 mois, bien que n'apparaissant pas sur son ordonnance habituelle. Elle avait pris de la biotine jusqu'au jour de sa première hospitalisation, mais n'avait pas pu la prendre pendant son séjour hospitalier. Elle l'avait prise à nouveau dès sa sortie de l'hospitalisation. Le premier bilan thyroïdien avait donc été réalisé sous biotine, le deuxième après 6 jours d'arrêt, et le troisième 2 jours après la reprise du traitement par biotine.

La patiente est demandée d'arrêter de prendre la biotine avant un nouveau contrôle du bilan thyroïdien 7 jours plus tard. Ce dernier était normal avec une TSH à **1,57 mUI/l**, une T3 à **3,67pmol/l** et une T4 augmentée à **13,09 pmol/l**. Les bilans thyroïdiens étaient donc normaux lors des 2 périodes d'interruption de la biotine. [8]

Exemple 2 :

Une patiente de 77 ans s'est vue découvrir **une hyperthyroïdie** majeure avec **positivité** des anticorps anti-récepteur de la TSH évoquant une maladie de Basedow.

La patiente était asymptomatique et devant cette discordance clinico-biologique, une interférence de dosage par la biotine a été évoquée. Après une suspension du traitement de 72 h, le bilan thyroïdien s'est normalisé avec des anticorps négatifs. [9]

Exemple 3 :

Une patiente âgée de 48 ans, traitée par biotine à haute dose, présente une thyroïdite multinodulaire à l'échographie, tout en étant asymptomatique avec un examen clinique normal. A la biologie ; TSH à **0,005 mU/l**, T4 à **59,9 ng/l**, anticorps anti-TPO positifs à

>**600 UI/L** (seuil>34) et anti-TG à **591 UI/L** (seuil>115). La biologie faite 5 jours après l'arrêt de la biotine montre une normalisation (TSH à **0,58 mU/L**, T4L à **9,5 ng/l**) [10]

Exemple 4 :

Une patiente de 42 ans, présente une biologie avec TSH à **0,008 mU/l** , T4L à **41 ng/l** et anti-TPO positifs à **364 UI/L** avec des signes cliniques étonnamment modérés de thyrotoxicose (perte de 2 Kg, irritabilité, thermophobie, absence de tachycardie). Le doute sur une interaction avec la biotine à haute dose ainsi que son inefficacité sur la sclérose en plaque conduisent à son arrêt. Deux semaines plus tard, la biologie est normale (TSH à **1,82mU/l**, T4L à **9,6 ng/l**), avec négativité des anti-TPO. [10]

Chapitre II : Matériels et méthodes

1. Population étudiée

Cette étude est réalisée sur des patients qui se rendent au laboratoire pour effectuer des examens biologiques et en particulier chimiques et sérologiques, et qui ont un aspect du sérum hémolysé, ictérique ou lipémique.

2. Tubes utilisés

Les dosages chimiques et sérologiques s'effectuent sur un spécimen de sang prélevé dans des tubes à bouchon vert (pour les tests de chimie) et des tubes à bouchon jaune (pour les tests de sérologie)

- Le tube à bouchon vert contient un anti coagulant : l'héparine de lithium
- Le tube à bouchon jaune ne contient aucun anti coagulant mais il est caractérisé par la présence d'un gel séparateur entre les cellules sanguines et le plasma

3. Etapes de travail

a) Centrifugation

Les prélèvements sont mis dans la centrifuge afin de séparer les cellules sanguines du plasma, l'aspect du sérum est généralement remarquable à l'œil nu par la couleur différente de la normale.

Pour les tubes verts : 1000 tours par minute pendant 2 minutes

Pour les tubes jaunes : 4000 tours par minutes pendant 10 minutes

b) Mesure de la valeur d'aspect

La mesure de la valeur d'aspect du sérum est effectuée par des appareils automatiques spécialisés :

Cobas e 411 pour les dosages de sérologie

C'est un analyseur automatisé qui repose sur la technologie brevetée de l'électrochimiluminescence (ECL) pour réaliser des analyses de test immunologiques. Il a été développé pour des dosages in vitro quantitatifs et qualitatifs pour une large gamme d'applications (notamment les marqueurs de l'anémie et les marqueurs osseux, cardiaques et tumoraux, les soins intensifs, la fertilité/les hormones, les soins de grossesse et les maladies infectieuses)



Figure 5 : Cobas e 411 pour les dosages de sérologie

C'est un analyseur sélectif patient par patient, à accès aléatoire et continu. Intégration de 4 principes de mesure (absorbance, turbidimétrie, polarisation de fluorescence, dépistage de drogues urinaires), avec une capacité de 36 paramètres en ligne.



Figure 6 : Intégra 400 pour le dosage de chimie

4. Explication :

On compare la valeur trouvée pour chaque aspect avec les valeurs du tableau suivant afin de savoir s'il y a présence d'hémolyse, d'ictère ou bien de lipémie, et son échelle.

Tableau 2 : Tableau des indices de référence (Roche)

ÉCHELLE	INDICE H (mg/dL)	INDICE I (mg/dL)	INDICE L (mg/dL)
Aucune	< 30	< 2	50
1+	$30 \leq H < 100$	$2 \leq I < 4$	$50 \leq L < 100$
2+	$100 \leq H < 200$	$4 \leq I < 10$	$100 \leq L < 150$
3+	$200 \leq H < 500$	$10 \leq I < 20$	$150 \leq L < 200$
4+	≥ 500	≥ 20	≥ 200

5. Exemple pour hémolyse :

Un prélèvement identifié par 21O357 a été reçu le 11/06/2021 pour faire un dosage de potassium est LDH, alors que leur résultat d'aspect est la suivante :

- Hémolyse : 405
- Ictère : 0

- Lipémie : 17

Après comparaison avec les valeurs du tableau, on a trouvé que cet échantillon est hématurique avec échelle de 3+ parce que $200 \leq 405 \leq 500$

6. Exemple pour ictère :

Un prélèvement d'un nouveau-né identifié par 21F404 a été reçu le 10/06/2021 pour faire un dosage de GGT, alors que leur résultat d'aspect est la suivante :

- Hémyolyse : -2
- Ictère : 15
- Lipémie : 25

Après comparaison avec les valeurs du tableau, on a trouvé que cet échantillon est ictérique avec échelle de 3+ parce que $10 \leq 15 \leq 20$

Alors on ne peut pas faire ce dosage, il est nécessaire de prendre un traitement pour baisser la bilirubine chez ce nouveau-né

7. Exemple pour lipémie :

Un prélèvement identifié par 21E629 a été reçu le 10/06/2021 pour faire un dosage de LDL, alors que leur résultat d'aspect est la suivante :

- Hémyolyse : 23
- Ictère : 1
- Lipémie : 55

Après comparaison avec les valeurs du tableau, on a trouvé que cet échantillon est lipémique avec échelle de 1+ parce que $50 \leq 55 \leq 100$

Chapitre III : Résultats et discussion

Après la détection d'un échantillon hémolysé, lipémique ou ictérique pour lequel un dosage est impacté vient la question du rendu du résultat. Deux stratégies existent :

- La première consiste à ne pas rendre le résultat, d'informer le patient et de demander un nouvel échantillon.
- La deuxième solution, celle qui paraît la plus adaptée et celle qui est choisie d'employer au sein du laboratoire, est de rendre le résultat du dosage accompagné d'un commentaire précisant le sens voire le niveau de l'interférence.

Conclusion :

Cette étude confirme l'importance de maîtriser la mesure d'interférence d'hémolyse, d'ictère, de lipémie ou de biotine sur chaque échantillon et conduit à des recommandations : le biologiste doit avoir une bonne connaissance de l'impact de l'interférence sur les examens de biologie médicale qu'il effectue, et en cas d'un échantillon détecté, il est conseillé d'accompagner le résultat d'un commentaire pertinent, ce commentaire doit être gradué en fonction du degré d'interférence trouvée et de l'impact clinique du résultat.

Références :

- [1] Buchman M, Esther F, Kessler D. "Erreurs pré-et post-analytiques identifiées par le CQE". Avril 2016 : 1
- [2] Olivier P-S, André D, Kessler D. "Echantillon hémolysé, lipémique, ictérique". Juin 2010 : 1-2
- [3] Damien A, "Interférences de l'hémolyse, de la lipémie, et de l'ictère sur le dosage des principaux paramètres chimiques". Juin 2015 : 27-59
- [4] Fiches techniques Roche Diagnostics
- [5] Degraeve S, "Evaluation de l'interférence de la biotine sur certains immunodosages". Juillet 2019 : 1-2
- [6] Morin Y, Baretts M. "Biotine et interférences dans les immunodosages". Avril 2018 : 1-2
- [7] Ranaivosoa MK, Ganel S, Arnaud A, Romain S, Parent X, Reix N. "Insuffisance rénale chronique et biotine: un duo propice aux bilans thyroïdiennes et parathyroïdiens erronés, à propos de 2 cas" 2017 :4
- [8] Benjamin B, Alexia R. "La prise de biotine à fortes doses : une cause d'hyperthyroïdie biologique factice" 2019 : 4-5
- [9] Nguyen A, Fromont A, Duvillard L, Moreau T, Denimal D, Charpin E, Verges B. "Attention aux interférences dans le dosage des hormones thyroïdiennes par les nouveaux traitements par biotine utilisés dans la sclérose en plaque". 2016 :230
- [10] Garon-Czmil J, Petitpain N, Swiegot D, Weryha G, Klein M, Gillet P. "De fausses thyroïdites au cours de la SEP, cherchez la biotine" 2018 : 164

