



LABOSUD  
OC BIOLOGIE

## Etude interne

Etude réalisée entre le 24/02/2014 et le 20/03/2014.

### Intitulé de l'étude : Etude de l'influence du délai avant prétraitement sur la stabilité du dosage du potassium et de la LDH

#### Responsable(s) de l'étude :

*C. Ilardo, C. Puelles, P. Dumas, F. Dumas, J.M. Réal, P. Grangier.*

#### 1-Introduction :

Dans le cadre de la démarche qualité de notre LBM et en particulier de la réflexion menée sur l'étape pré-analytique et conformément aux référentiels opposables (NFISO 15189, SHREF02), nous avons été amené à étudier l'impact du délai d'acheminement sur la stabilité de l'échantillon avant prétraitement (centrifugation) sur le dosage potassium et de la LDH.

En effet un certain nombre de prélèvements sanguins sont réalisés hors du site du laboratoire.

Ceci entraînant un délai d'acheminement plus ou moins long des échantillons non centrifugés au laboratoire sans que l'impact analytique de ce retard soit parfaitement évalué.

Plusieurs études traitent de la stabilité des analytes après prétraitement, mais les études sur sang total avant prétraitement sont peu nombreuses et donnent des notions variables.

Le temps de prise en charge préanalytique des prélèvements effectués en dehors des sites peut atteindre 6 heures; nous avons donc étudié la stabilité du potassium et de la LDH avant prétraitement entre 0 et 7 heures sur des échantillons sanguins recueillis et conservés sur tube hépariné et sec avec séparateur de gel, conformément aux pratiques habituelles de prélèvement.

Le but de ce travail est de déterminer le délai maximal acceptable entre le prélèvement et la centrifugation, dans nos conditions déterminées.

#### 2-Échantillons et recueil :

L'étude a été réalisée sur 25 volontaires (personnel du laboratoire), 14 femmes et 11 hommes, apparemment sains, âgés de 21 à 53 ans, après recueil du consentement libre et éclairé.

Le sang veineux a été collecté dans 10 tubes : 5 tubes secs (3,5ml) avec gel séparateur pour le dosage du potassium et de la LDH et 5 tubes héparine de Lithium (3,5ml) avec gel séparateur pour le dosage du potassium, dans le respect des bonnes pratiques de prélèvement, par ponction veineuse au pli du coude.

Les volontaires ont été prélevés sur une période s'étalant du 24/02/2014 au 20/03/2014.

### **3-Enregistrement et identification des tubes :**

Enregistrement sur le SIL :

Pour chaque patient 5 accueils seront effectués.

**Sexe , civilité :** Mr, Me

**Nom:** ETUDE KLDH T0, ETUDE KLDH T4H, ETUDE KLDH T5H, ETUDE KLDH T6H, ETUDE KLDH T7H

**Prénom :** 3 premières lettre du nom et 3 premières lettres du prénoms

**Codes analyses saisis :** K LDH KH

Les tubes seront identifiés avec les CAB édités.

### **4-Protocole :**

Les tubes T4H, T5H, T6H, T7H ( 5 tubes secs + 5 tubes héparinés) sont placés dans des sachets et disposés dans des boites de transports (identiques à ceux utilisés par les préleveurs extérieurs, les tubes sont en position horizontale).

Elles seront transportées dans les conditions des tournées intrasites à température ambiante pendant une durée de 2h à 2h30.

Le tube T0 sera centrifugé ( 10 minutes à 1700g et 22°C) et traité sur le plateau technique pour déterminer les valeurs initiales à T0 du potassium et de la LDH .

A l'arrivée de la tournée :

Tous les autres tubes seront placés en technique sur un portoir à température ambiante et seront pris en charge à temps 4h, 5h, 6h, 7h.

Une évaluation qualitative de l'aspect du plasma sera également réalisée, dans le but d'éliminer toute interférence macroscopique (hémolyse, turbidité....).

L'ensemble des opérations (prélèvement, prise en charge au tri, transport et technique) seront tracées sur la fiche d'enregistrement RI-ENR.45 : « Protocole d'étude de la stabilité du potassium et de la LDH» par les différents acteurs.

### **5-Matériel**

L'étude est réalisée sur des tubes sec avec gel séparateur BD Vacutainer® 3,5ml (SST II™ advance) , sur tube héparinate de lithium avec gel séparateur BD Vacutainer® 3,0 ml (LH PST™ II ) de la société Becton Dickinson © .

La centrifugation est réalisée à partir d'une centrifugeuse Thermo Scientific SL 40R ®, dont la température fait l'objet d'une vérification avec une sonde raccordée au S.I. sous accréditation.

Le dosage est effectué sur MODULAR module ISE900 de la société Roche Diagnostics ® , utilisant une méthode de potentiométrie indirecte.

Les dosages sont réalisés par série, encadrés par plusieurs contrôles internes de qualité de la Roche Diagnostics ® (2 niveaux). Pour chaque paramètre, des évaluations externes de la qualité de chez ProBioQual ® sont régulièrement évalués.

## 6-Analyse statistique

L'objectif de l'analyse statistique est d'étudier les différentiels des résultats moyens de potassium et LDH obtenus à T0h et ceux analysés à T4h, T5h, T6h et T7h. Il existe dans la littérature plusieurs référentiels pour permettre la comparaison de deux populations appariés. Pour cette étude nous opterons pour 2 types de tests :

- La variation limite totale acceptable, qui est un test combinant à la fois la variabilité analytique et la variabilité biologique intra-individuelle **(1)** :
  - la variabilité analytique est exprimée selon la norme ISO 5725-6 **(2)** par +/- 2,77 CVa (CVa étant le coefficient de variation de la fidélité intermédiaire pour le test évalué dans une zone proche de la concentration moyenne étudiée).
  - la variabilité biologique intra-individuelle est exprimée dans les tables de C. Ricos et al. **(3)** . En appliquant la formule de Callum Fraser et al. **(4)**, la fidélité d'une méthode doit être inférieure à la moitié de la variabilité biologique intra-individuelle (Cvb) soit +/- 0,5 Cvb.
  - la variation limite totale acceptable est calculée par la racine carrée de la somme de chacune des variabilité analytique et biologique soit  $VLTA = [(2,77*CVa)^2 + (0,5*CVb)^2]^{0,5}$ .
  
- Les tests statistiques sont réalisés avec le logiciel XLSTAT de la société Addinsoft ©.  
Le test statistique qui tient compte de la taille des effectifs, la variabilité de la population étudiée (paramétrique ou non paramétrique), et de l'homogénéité des variances **(5)**.  
Le test de Kolmogorov-Smirnov est utilisé pour vérifier que les données comparées suivent la même distribution. Un test de Shapiro-Wilk est effectué pour tester la normalité des distributions des taux obtenus ( $p > 0,05$ ).  
Les résultats étudiés sont distribués normalement, on utilise un « test t de Student » avec :
  - Deux hypothèses :  
H0 : la concentration moyenne est la même entre T0 et T (4h,5h,6h,7h)  
H1 : la concentration moyenne est différente entre T0 et T (4h,5h,6h,7h)
  - un risque  $\alpha = 0,05$  :

La combinaison des deux tests permet de pondérer les résultats en cherchant à vérifier si les différences statistiquement significatives ont un impact sur l'interprétation clinique.

## 7-Résultat

### 7.1 Stabilité du K (mmol/L) prélèvements effectués sur tube sec avec gel

N°	ID	K T0	K T4H	K T5H	K T6H	K T7H
1	DEBLAU	4,33	4,4	4,43	4,35	4,42
2	CLEALI	3,97	4	4,04	4,16	4
3	ROUANN	3,73	3,87	3,94	3,87	3,98
4	SINKAR	4,48	4,46	4,47	4,45	4,38
5	VALJAL	4,63	4,45	4,54	4,64	4,58
6	REAJEM	4,04	3,97	3,94	4,02	4,04
7	CHRSAL	3,81	3,86	3,94	3,92	3,96
8	ANNCAR	4,56	4,66	4,9	4,85	4,34
9	ARALEJ	4,27	4,3	4,63	4,5	4,56
10	YANBEA	4,26	4,07	4,15	4,14	4,13
11	PASDUM	4,7	4,36	4,26	4,53	4,24
12	ANNROU	3,72	3,74	3,86	3,91	3,88
13	VIVSAN	4,31	3,81	4,22	4,27	4,22
14	SANLAF	3,84	4,03	3,8	3,75	3,67
15	VALDEU	4,27	4,31	4,18	4,27	4,15
16	GERSIN	4,17	4,29	4,27	4,32	4,37
17	SEBFLA	4,1	4,19	4,15	4,04	4,09
18	BRIBOU	3,82	4,17	3,99	3,9	3,35
19	MARMAR	3,98	4,24	4,32	4,4	4,71
20	GERSIN	4,01	4,02	4,00	3,95	3,74
21	ALICLE	4,27	4,01	4,00	3,93	3,88
22	CARMIR	4,17	4,29	4,24	4,19	4,23
23	OLIBOI	3,54	3,45	3,71	3,47	3,45
24	CYNVAI	3,91	3,8	3,8	3,77	3,78
25	BRIJOL	3,89	3,96	3,97	3,92	3,84
26	CHRBAU	4,23	4,33	4,21	4,24	4,21
27	CYRCIN	4,06	3,97	4,01	3,99	3,94
28	OLIBOD	3,66	3,6	3,52	3,5	3,47

## Statistique descriptives :

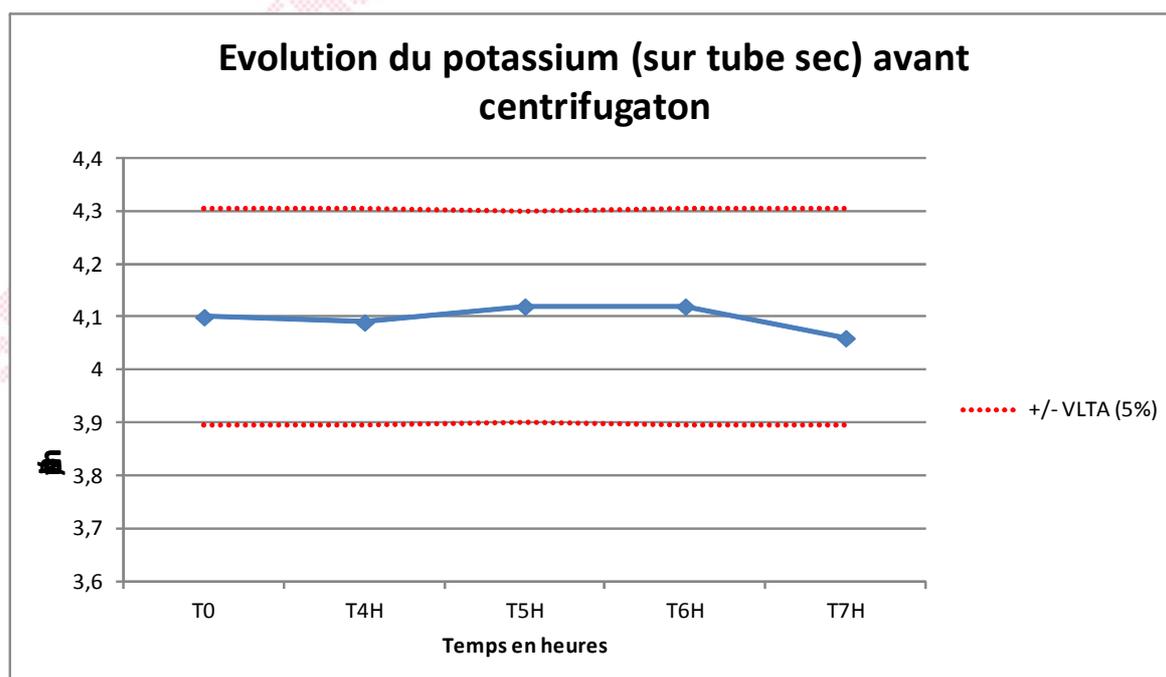
Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
KT0	28	3,540	4,700	4,098	0,297
KT4H	28	3,450	4,660	4,093	0,281
KT5H	28	3,520	4,900	4,125	0,296
KT6H	28	3,470	4,850	4,116	0,326
KT7H	28	3,350	4,710	4,058	0,343

Etude statistique K sur tube sec				
Test t de Student	KT0 versus KT4h	KT0 versus KT5h	KT0 versus KT6h	KT0 versus KT7h
Différence	0,004	-0,027	-0,019	0,040
t (Valeur observée)	0,055	-0,343	-0,223	0,467
t  (Valeur critique)	2,005	2,005	2,005	2,005
DDL	54	54	54	54
p-value (bilatérale)	0,956	0,733	0,824	0,643
alpha	0,05	0,05	0,05	0,05
Conclusion	H0 retenue	H0 retenue	H0 retenue	H0 retenue

## Analyse par la VLTA :

CVa (reproductibilité) %	1,62
CVb (intraindividuel Ricos) %	4,8
VLTA en %	5,0

	T0	T4H	T5H	T6H	T7H
Potassium	4,1	4,09	4,12	4,12	4,06
VLTA basse	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9
VLTA haute	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3



## 7.2 Stabilité du K (mmol/L), prélèvements effectués sur tube hépariné

N°	ID	K T0	K T4H	K T5H	K T6H	K T7H
1	DEBLAU	3,87	3,99	3,77	3,76	3,7
2	CLEALI	3,81	3,83	3,75	3,77	3,76
3	ROUANN	3,21	3,21	3,22	3,23	3,21
4	SINKAR	4,06	4,11	4,04	4,01	3,9
5	VALJAL	3,91	3,76	3,75	3,87	3,94
6	REAJEM	3,85	3,78	3,73	3,67	3,68
7	CHRSAL	3,57	3,61	3,42	3,57	3,57
8	ANNCAR	4,23	4	4,03	4,01	3,96
9	ARALEJ	3,99	3,87	4,02	3,95	4
10	YANBEA	3,8	3,72	3,75	3,76	3,67
11	PASDUM	3,93	3,93	3,9	3,87	3,86
12	ANNROU	3,23	3,19	3,16	3,27	3,22
13	VIVSAN	3,96	4,26	3,74	3,76	3,78
14	SANLAF	3,41	3,47	3,46	3,41	3,43
15	VALDEU	3,94	3,9	3,85	3,8	3,82
16	GERSIN	3,86	3,87	3,84	3,8	3,89
17	SEBFLA	4,03	3,91	3,88	3,79	3,7
18	BRIBOU	3,35	3,39	3,34	3,37	3,37
19	MARMAR	3,58	3,58	3,42	3,37	3,44
20	GERSIN	3,43	3,42	3,29	3,29	3,34
21	ALICLE	3,68	3,63	3,61	3,59	3,42
22	CARMIR	3,95	3,95	3,96	3,83	3,8
23	OLIBOI	2,91	2,95	2,88	2,84	2,9
24	CYNVAI	3,45	3,32	3,2	3,14	3,15
25	BRIJOL	3,6	3,44	3,35	3,4	3,31
26	CHRBAU	3,89	3,88	3,83	3,72	3,73
27	CYRCIN	3,52	3,39	3,37	3,41	3,42
28	OLIBOD	3,33	3,21	3,15	3,15	3,15

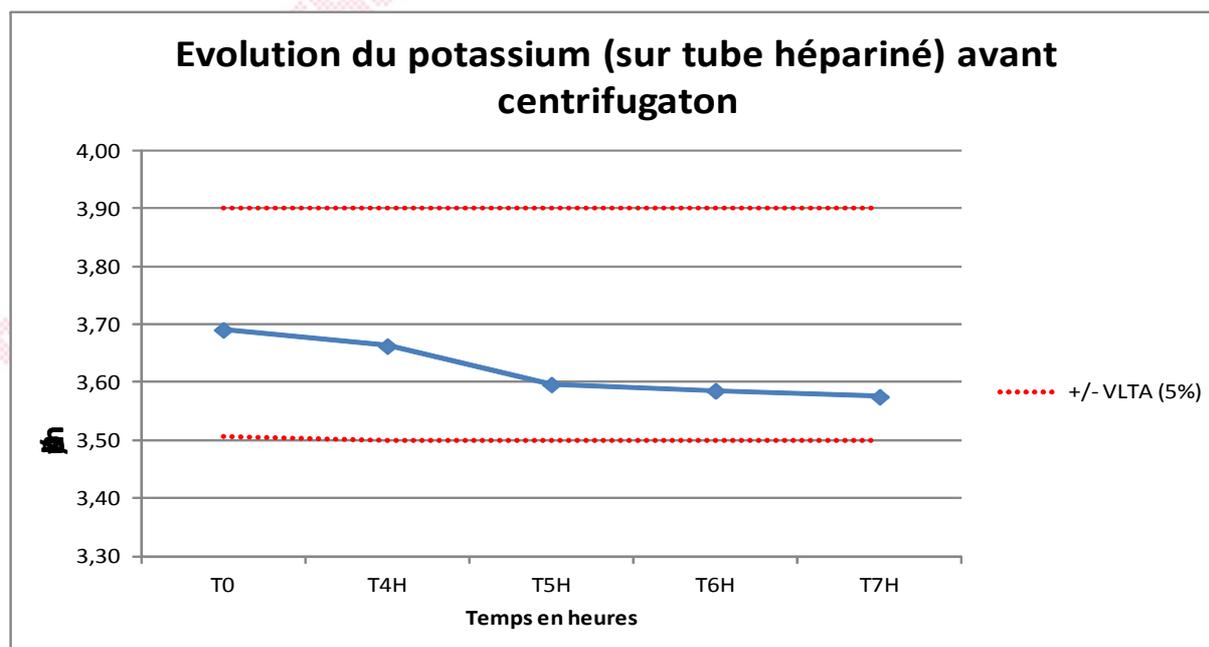
## Statistique descriptives :

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
KT0	28	2,910	4,230	3,691	0,314
KT4H	28	2,950	4,260	3,663	0,322
KT5H	28	2,880	4,040	3,597	0,319
KT6H	28	2,840	4,010	3,586	0,301
KT7H	28	2,900	4,000	3,576	0,294

Etude statistique K sur tube hépariné				
Test t de Student	KT0 versus KT4h	KT0 versus KT5h	KT0 versus KT6h	KT0 versus KT7h
Différence	0,028	0,094	0,105	0,115
t (Valeur observée)	0,328	1,116	1,278	1,418
t  (Valeur critique)	2,005	2,005	2,005	2,005
DDL	54	54	54	54
p-value (bilatérale)	0,744	0,270	0,207	0,162
alpha	0,05	0,05	0,05	0,05
Conclusion	H0 retenue	H0 retenue	H0 retenue	H0 retenue

## Analyse par la VLTA :

CVa (reproductibilité) %	1,62				
CVb (intra-individuel Ricos) %	4,8				
VLTA en %	5,0				
	T0	T4H	T5H	T6H	T7H
Potassium	3,69	3,66	3,60	3,59	3,58
VLTA basse	3,5	3,5	3,5	3,5	3,5
VLTA haute	3,9	3,9	3,9	3,9	3,9



### 7.3 Stabilité du LDH (UI/L), prélèvements effectués sur tube sec avec gel

N°	ID	LDH T0	LDH T4H	LDH T5H	LDH T6H	LDH T7H
1	VALJAL	154	190	176	164	173
2	REAJEM	191	200	200	198	204
3	CHRSAL	187	200	194	197	200
4	ANNCAR	185	183	188	180	181
5	ARALEJ	228	225	265	240	269
6	YANBEA	138	140	132	130	129
7	PASDUM	132	146	141	145	151
8	ANNROU	138	162	140	145	156
9	VIVSAN	169	186	162	165	163
10	SANLAF	188	201	208	194	183
11	VALDEU	162	185	176	175	195
12	GERSIN	150	156	159	163	190
13	SEBFLA	157	156	159	163	166
14	BRIBOU	151	161	162	167	173
15	MARMAR	185	199	200	202	202
16	GERSIN	207	217	229	231	237
17	ALICLE	166	173	173	169	172
18	CARMIR	138	139	144	145	147
19	OLIBOI	202	197	211	205	213
20	CYNVAI	160	168	174	163	170
21	BRIJOL	137	155	156	152	149
22	CHRBAU	184	197	194	193	192
23	CYRCIN	139	152	151	143	147
24	OLIBOD	228	272	238	236	232

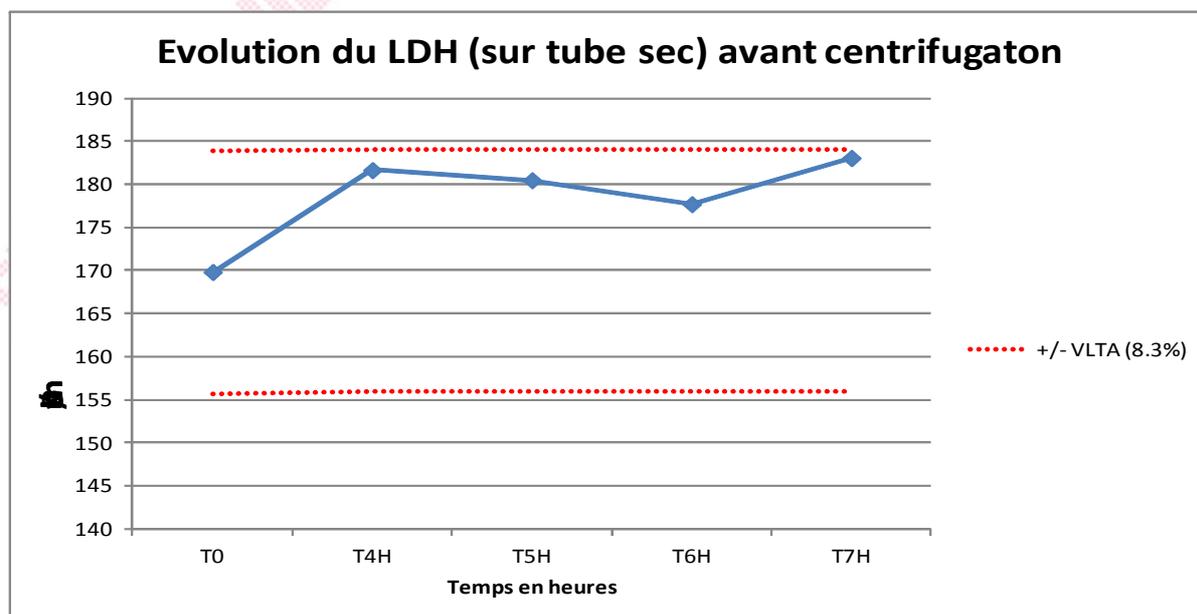
## Statistique descriptives :

Variable	Observations	Minimum	Maximum	Moyenne	Ecart-type
LDH T0	24	132,00	228,00	169,83	28,56
LDH T4H	24	139,00	272,00	181,67	30,94
LDH T5H	24	132,00	265,00	180,50	33,47
LDH T6H	24	130,00	240,00	177,71	30,42
LDH T7H	24	129,00	269,00	183,08	32,69

Etude statistique LDH sur tube sec				
Test t de Student	KT0 versus KT4h	KT0 versus KT5h	KT0 versus KT6h	KT0 versus KT7h
Différence	-11,833	-10,667	-7,875	-13,250
t (Valeur observée)	-1,377	-1,188	-0,925	-1,495
t  (Valeur critique)	2,013	2,013	2,013	2,013
DDL	46	46	46	46
p-value (bilatérale)	0,175	0,241	0,360	0,142
alpha	0,05	0,05	0,05	0,05
Conclusion	H0 retenue	H0 retenue	H0 retenue	H0 retenue

## Analyse par la VLTA :

CVa (reproductibilité) %	2,81				
CVb (intraindividuel Ricos) %	8,6				
VLTA en %	8,3				
	T0	T4H	T5H	T6H	T7H
LDH	170	182	181	178	183
VLTA basse	156	156	156	156	156
VLTA haute	184	184	184	184	184



## **8-Dicussion**

Pour le potassium, que se soit sur tube sec avec gel séparateur ou sur tube hépariné, les résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative (VTLA et test t Student  $p > 0,05$ ) entre T0h et T7h. L'évolution graphique montre une stabilité sur tube sec et une légère diminution (autour de 0,1 mmol/L) pour les prélèvements effectués sur tube hépariné.

Pour le LDH, les résultats montrent qu'il n'y a pas de différence significative (VTLA et test t Student  $p > 0,05$ ) entre T0h et T7h. L'évolution graphique montre une légère augmentation (autour de 10 UI/L).

## **9-Conclusion**

La maîtrise de l'ensemble des paramètres pré-analytiques (prélèvements, transports, température, délais), contribue fortement à l'amélioration du processus analytique. Dans ce travail, nous avons démontré que, dans des conditions pré-analytiques maîtrisées, le potassium (prélevé sur tube sec avec gel séparateur ou sur tube hépariné) et la LDH (prélevée sur tube sec avec gel séparateur) sont stables 7h avant centrifugation, dans des conditions de conservation à température ambiante (15-25°C).

**On doit retenir que cette étude a été réalisée sur des sujets « sains » et qu'il est possible que les stabilités puissent être « légèrement » différentes en cas de pathologie.**

## **10-Références bibliographiques**

1. **C Oddoze, E. Lombard, H. Portugal,**

*Conservation des échantillons biologiques avant et après centrifugation : effet de la nature des tubes, de la température et du délai avant analyse*, Feuillet de Biologie, N°308, 2012.

2. **ISO 5725-6.** *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results. Part6 : Use in practice of accuracy values*, 1994.

3. **J. Minchinela, C. Ricós, C. Perich, P. Fernández-Calle, V. Alvarez, M. Domenech, M. Simón, C. Biosca, B. Boned, F. Cava, J-V García-Lario, M<sup>a</sup> Pilar Fernández-Fernández.** *Biological variation database, and quality specifications for imprecision, bias and total error (desirable and minimum). The 2014 update.* <http://westgard.com/biodatabase-2014-update/print.htm>.

4. **Callum G. Fraser and Per Hyltoft Petersen,** *Analytical Performance Characteristics Should Be Judged against Objective Quality Specifications*, **Clinical Chemistry** 45, No. 3, 1999.

5. **J. Fermanian ,** *Méthodes statistiques*, 7ème édition, Association de Coordination Technique Agricole, 1999.