



## Open Archive TOULOUSE Archive Ouverte (OATAO)

OATAO is an open access repository that collects the work of Toulouse researchers and makes it freely available over the web where possible.

This is an author-deposited version published in : <http://oatao.univ-toulouse.fr/Eprints> ID : 10922

**To cite this version :**

Brosse, Claire. *Variables plasmatiques chez le chat sain : effet des conditions de stockage du spécimen, de l'anticoagulant, de l'hémolyse, du moment de prélèvement et du repas*. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT, 2014, 121 p.

Any correspondance concerning this service should be sent to the repository administrator: [staff-oatao@inp-toulouse.fr](mailto:staff-oatao@inp-toulouse.fr).

# VARIABLES PLASMATIQUES CHEZ LE CHAT SAIN : EFFET DES CONDITIONS DE STOCKAGE DU SPECIMEN, DE L'ANTICOAGULANT, DE L'HEMOLYSE, DU MOMENT DE PRELEVEMENT ET DU REPAS

---

THESE  
pour obtenir le grade de  
DOCTEUR VETERINAIRE

DIPLOME D'ETAT

*présentée et soutenue publiquement  
devant l'Université Paul-Sabatier de Toulouse*

*par*

**BROSSE Claire Françoise Cécile**

Née, le 17 juillet 1988 à MANOSQUE (04)

---

**Directeur de thèse : M. Hervé LEFEBVRE**

---

## JURY

PRESIDENT :  
**M. Jacques POURRAT**

Professeur à l'Université Paul-Sabatier de TOULOUSE

ASSEESSEURS :  
**M. Hervé LEFEBVRE**  
**M. Brice REYNOLDS**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE  
Maître de Conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE



**Ministère de l'Agriculture de l'Agroalimentaire et de la Forêt**  
**ECOLE NATIONALE VETERINAIRE DE TOULOUSE**

**Directeur** : M. A. MILON

**PROFESSEURS CLASSE EXCEPTIONNELLE**

- M. **AUTEFAGE André**, *Pathologie chirurgicale*
- M. **CORPET Denis**, *Science de l'Aliment et Technologies dans les Industries agro-alimentaires*
- M. **DELVERDIER Maxence**, *Anatomie Pathologique*
- M. **ENJALBERT Francis**, *Alimentation*
- M. **EUZEBY Jean**, *Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie*
- M. **FRANC Michel**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- M. **MARTINEAU Guy**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*
- M. **PETIT Claude**, *Pharmacie et Toxicologie*
- M. **REGNIER Alain**, *Physiopathologie oculaire*
- M. **SAUTET Jean**, *Anatomie*
- M. **SCHELCHER François**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*

**PROFESSEURS 1° CLASSE**

- M. **BERTHELOT Xavier**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **BOUSQUET-MELOU Alain**, *Physiologie et Thérapeutique*
- Mme **CLAUW Martine**, *Pharmacie-Toxicologie*
- M. **CONCORDET Didier**, *Mathématiques, Statistiques, Modélisation*
- M. **FOUCRAS Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **LEFEBVRE Hervé**, *Physiologie et Thérapeutique*

**PROFESSEURS 2° CLASSE**

- Mme **BENARD Geneviève**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*
- M. **BERTAGNOLI Stéphane**, *Pathologie infectieuse*
- Mme **CHASTANT-MAILLARD Sylvie**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **DUCOS Alain**, *Zootéchnie*
- M. **DUCOS DE LAHITTE Jacques**, *Parasitologie et Maladies parasitaires*
- Mme **GAYRARD-TROY Véronique**, *Physiologie de la Reproduction, Endocrinologie*
- M. **GUERRE Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*
- Mme **HAGEN-PICARD Nicole**, *Pathologie de la Reproduction*
- M. **JACQUIET Philippe**, *Parasitologie et Maladies Parasitaires*
- M. **LIGNEREUX Yves**, *Anatomie*
- M. **MEYER Gilles**, *Pathologie des ruminants*
- M. **PICAVET Dominique**, *Pathologie infectieuse*
- M. **SANS Pierre**, *Productions animales*
- Mme **TRUMEL Catherine**, *Pathologie médicale des Equidés et Carnivores*

**PROFESSEURS CERTIFIES DE L'ENSEIGNEMENT AGRICOLE**

- Mme **MICHAUD Françoise**, *Professeur d'Anglais*
- M. **SEVERAC Benoît**, *Professeur d'Anglais*

**MAITRES DE CONFERENCES HORS CLASSE**

- M. **BAILLY Jean-Denis**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
M. **BERGONIER Dominique**, *Pathologie de la Reproduction*  
Mlle **BOULLIER Séverine**, *Immunologie générale et médicale*  
Mme **BOURGES-ABELLA Nathalie**, *Histologie, Anatomie pathologique*  
M. **BRUGERE Hubert**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
Mlle **DIQUELOU Armelle**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
M. **JOUGLAR Jean-Yves**, *Pathologie médicale du Bétail et des Animaux de Basse-cour*  
Mme **LETRON-RAYMOND Isabelle**, *Anatomie pathologique*  
M. **LYAZRHI Faouzi**, *Statistiques biologiques et Mathématiques*  
M. **MATHON Didier**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **PRIYMENKO Nathalie**, *Alimentation*

**MAITRES DE CONFERENCES (classe normale)**

- M. **ASIMUS Erik**, *Pathologie chirurgicale*  
Mme **BENNIS-BRET Lydie**, *Physique et Chimie biologiques et médicales*  
Mlle **BIBBAL Delphine**, *Hygiène et Industrie des Denrées alimentaires d'Origine animale*  
Mme **BOUCLAINVILLE-CAMUS Christelle**, *Biologie cellulaire et moléculaire*  
Mlle **CADIERGUES Marie-Christine**, *Dermatologie*  
M. **CONCHOU Fabrice**, *Imagerie médicale*  
M. **CORBIERE Fabien**, *Pathologie des ruminants*  
M. **CUEVAS RAMOS Gabriel**, *Chirurgie Equine*  
Mme **DANIELS Hélène**, *Microbiologie-Pathologie infectieuse*  
M. **DOSSIN Olivier**, *Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores*  
Mlle **FERRAN Aude**, *Physiologie*  
M. **GUERIN Jean-Luc**, *Elevage et Santé avicoles et cunicoles*  
M. **JAEG Jean-Philippe**, *Pharmacie et Toxicologie*  
Mlle **LACROUX Caroline**, *Anatomie Pathologique des animaux de rente*  
M. **LIENARD Emmanuel**, *Parasitologie et maladies parasitaires*  
M. **MAILLARD Renaud**, *Pathologie des Ruminants*  
Mme **MEYNAUD-COLLARD Patricia**, *Pathologie Chirurgicale*  
M. **MOGICATO Giovanni**, *Anatomie, Imagerie médicale*  
M. **NOUVEL Laurent**, *Pathologie de la reproduction*  
Mlle **PALIERNE Sophie**, *Chirurgie des animaux de compagnie*  
Mlle **PAUL Mathilde**, *Epidémiologie, gestion de la santé des élevages avicoles et porcins*  
Mme **PRADIER Sophie**, *Médecine interne des équidés*  
M. **RABOISSON Didier**, *Productions animales (ruminants)*  
Mme **TROEGELER-MEYNADIER Annabelle**, *Alimentation*  
M. **VOLMER Romain**, *Microbiologie et Infectiologie (disponibilité à cpt du 01/09/10)*  
M. **VERWAERDE Patrick**, *Anesthésie, Réanimation*  
Mme **WASET-SZKUTA Agnès**, *Production et pathologie porcine*

**MAITRES DE CONFERENCES et AGENTS CONTRACTUELS**

- M. **BOURRET Vincent**, *Microbiologie et infectiologie*  
Mme **FERNANDEZ Laura**, *Pathologie de la reproduction*

**ASSISTANTS D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE CONTRACTUELS**

- Mlle **DEVIERS Alexandra**, *Anatomie-Imagerie*  
M. **DOUET Jean-Yves**, *Ophthalmologie*  
Mlle **LAVOUE Rachel**, *Médecine Interne*  
Mlle **PASTOR Mélanie**, *Médecine Interne*  
M. **VERSET Michaël**, *Chirurgie des animaux de compagnie*

# REMERCIEMENTS

**A Monsieur le Professeur Jacques Pourrat**

Professeur des universités

Qui m'a fait l'honneur de présider notre jury

Hommages respectueux.

**A Monsieur le Professeur Hervé Lefèbvre**

Professeur à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Physiologie et Thérapeutique

Pour avoir accepté d'être mon directeur de thèse et pour le temps passé à corriger ce travail,

Sincères remerciements.

**A Monsieur le Docteur Brice Reynolds**

Maître de conférences à l'Ecole Nationale Vétérinaire de TOULOUSE

Médecine interne

Pour son aide tout au long de la préparation de cette thèse

Sincères remerciements

A mes parents, pour votre amour et votre soutien inconditionnels et pour m'avoir permis de faire ce que j'aimais

A mon frère et ma sœur, pour votre patience et votre soutien

A toute ma famille

A Guillaume, pour être là, tout simplement, depuis toujours. Je suis très chanceuse d'avoir un ami comme toi.

A Claire, Aude, Pascaline, Cécile, Florianne, Marion, Lisa, Milène, Emilie, Pascale, Nathalie, merci pour toutes ces supers soirées et ces bons moments. Je vous souhaite le meilleur pour votre vie professionnelle et personnelle!

A Marianne pour ton aide pendant ces manipulations et la préparation de cette thèse, et pour ta gentillesse. Merci de m'avoir soutenue!

A Elizabeth, Sylvain, Jean-Pierre et toute l'équipe du service de physiologie, merci pour votre aide et votre gentillesse tout au long de ces manipulations.

A Claude Germain, pour votre patience et votre aide





# SOMMAIRE

<b>1.</b>	<b>PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE.....</b>	<b>4</b>
1.1.	Sources d'erreurs des résultats d'analyses biochimiques.....	4
1.2.	Influence des facteurs pré-analytiques chez le chat .....	6
1.2.1.	<i>Effet du repas et du moment du prélèvement.....</i>	<i>6</i>
1.2.2.	<i>Effet du choix de l'anticoagulant.....</i>	<i>7</i>
1.2.3.	<i>Effet de l'hémolyse.....</i>	<i>8</i>
1.2.4.	<i>Effet des conditions de stockage .....</i>	<i>9</i>
1.2.5.	<i>Effet de la méthode de collecte .....</i>	<i>10</i>
1.2.6.	<i>Effet du mode de vie .....</i>	<i>11</i>
1.2.7.	<i>Effet des facteurs liés à l'animal.....</i>	<i>11</i>
<b>2.</b>	<b>PARTIE EXPERIMENTALE.....</b>	<b>11</b>
2.1.	Matériels et méthodes.....	11
2.1.1.	<i>Animaux.....</i>	<i>12</i>
2.1.2.	<i>Prélèvement sanguin .....</i>	<i>13</i>
2.1.3.	<i>Gestion des prélèvements.....</i>	<i>13</i>
2.1.4.	<i>Dosage des analytes sériques et plasmatiques .....</i>	<i>13</i>
2.1.5.	<i>Etude 1 : Effet de l'anticoagulant sur les résultats d'analyses biochimiques .....</i>	<i>15</i>
a.	Objectif .....	15
b.	Traitement des spécimens.....	15
c.	Analyse statistique.....	15
2.1.6.	<i>Etude 2 : Stabilité à long terme des analytes biochimiques dans le plasma et le sérum congelés et stockés à -20°C.....</i>	<i>16</i>
a.	Objectif .....	16
b.	Traitement des spécimens.....	16
c.	Analyse statistique.....	16
2.1.7.	<i>Etude 3 : Effets du délai de centrifugation, de la durée et de la température de stockage des échantillons de plasma/sang total hépariné sur les résultats d'analyses biochimiques.....</i>	<i>17</i>
a.	Objectif .....	17
b.	Traitement des spécimens.....	17
c.	Analyse statistique.....	18
2.1.8.	<i>Etude 4 : Effet du moment de prélèvement et du repas sur les résultats d'analyses biochimiques</i>	<i>19</i>
a.	Objectif .....	19
b.	Traitement des spécimens.....	19
c.	Analyse statistique.....	20
2.1.9.	<i>Etude 5 : Effet des cycles congélation/décongélation sur les résultats d'analyses biochimiques....</i>	<i>21</i>
a.	Objectif .....	21
b.	Traitement des spécimens.....	21
c.	Analyse statistique.....	21

2.1.10. Etude 6 : Effet d'une hémolyse d'importance variable sur les résultats d'analyses biochimiques – Etude pilote.....	22
a. Objectif .....	22
b. Traitement des spécimens.....	22
c. Analyse .....	23
2.1.11. Etude 6 : Effet d'une hémolyse d'importance variable sur les résultats d'analyses biochimiques ..	23
a. Objectif .....	23
b. Traitement des spécimens.....	23
c. Analyse statistique.....	25
2.2. Résultats .....	25
2.2.1. Etude 1 : Effet de l'anticoagulant .....	25
2.2.2. Etude 2 : Stabilité à long terme des analytes biochimiques dans le plasma congelé à -20°C.....	33
2.2.3. Etude 3 : Effet du délai de centrifugation, de la durée et de la température de stockage des échantillons de plasma/sang total hépariné sur les résultats d'analyses biochimiques.....	39
2.2.4. Etude 4 : Effet du moment de prélèvement et du repas .....	48
2.2.5. Etude 5 : Effet des cycles congélation/décongélation .....	59
2.2.6. Etude 6 : Effet d'une hémolyse d'importance variable .....	62
2.3. Discussion .....	67
2.3.1. Effet du spécimen .....	68
2.3.2. Effet de la congélation sur une longue durée .....	70
2.3.3. Effet du délai de centrifugation, de la durée et de la température de stockage des échantillons de plasma/sang total hépariné.....	72
2.3.4. Variations circadiennes et effet du repas .....	76
2.3.5. Effet des cycles de congélation/décongélation.....	80
2.3.6. Effet d'une hémolyse plus ou moins marquée .....	80
<b>ANNEXES .....</b>	<b>91</b>

## ANNEXES

ANNEXE 1 : Participation des chats aux différentes séances de manipulation et volume de sang prélevé .....	92
ANNEXE 2 : Liste des chats participant à chaque séance de prélèvement .....	93
ANNEXE 3 : Résultats de l'étude de l'effet de l'anticoagulant (S= sérum ; H=plasma hépariné ; E=plasma EDTA ; C=plasma citraté) .....	94
ANNEXE 4 : Résultats de l'étude de l'effet de la congélation du plasma hépariné à -20°C .....	96
ANNEXE 5 : Résultats de l'étude de l'effet de la congélation du sérum à -20°C.....	98
ANNEXE 6 : Résultats de l'étude de l'effet du stockage du sang total à 20°C.....	100
ANNEXE 7 : Résultats de l'étude de l'effet du stockage du sang total à 4°C.....	102
ANNEXE 8 : Résultats de l'étude de l'effet du stockage du plasma hépariné à 20°C.....	104
ANNEXE 9 : Résultats de l'étude de l'effet du stockage du plasma hépariné à 4°C.....	106
ANNEXE 10 : Résultats de l'étude des variations circadiennes chez les chats à jeun (Période 1= 1 <sup>ère</sup> séance de prélèvement ; Période 2=2 <sup>ème</sup> séance de prélèvement) .....	108

ANNEXE 11 : Résultats de l'étude de l'effet du repas au cours de la journée (Période 1= 1 <sup>ère</sup> séance de prélèvement ; Période 2=2 <sup>ème</sup> séance de prélèvement) .....	111
ANNEXE 12 : Résultats de la confirmation de l'étude de l'effet du repas sur la concentration de créatinine et d'urée dans le plasma hépariné .....	114
ANNEXE 13 : Résultats de l'étude de l'effet des cycles de congélation/décongélation dans le plasma hépariné (Cycles= nombres de cycles de congélation/décongélation subis par l'échantillon de plasma hépariné) .....	115
ANNEXE 14 : Résultats de l'étude de l'effet des cycles de congélation/décongélation dans le sérum .....	117
ANNEXE 15 : Résultats de l'étude de l'effet de l'hémolyse.....	119

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

### Liste des Figures :

Figure 1 : Phases menant à l'interprétation de résultats d'analyses biochimiques.....	4
Figure 2 : Traitement des spécimens pour l'étude 3.....	18
Figure 3 : Plan en carré latin pour l'étude 4.....	19
Figure 4 : Traitement des spécimens pour l'étude 6.....	24
Figure 5 : Graphique de Bland-Altman représentant la différence entre les activités de la PAL dans le plasma EDTA (E) et dans le plasma hépariné (H).....	29
Figure 6 : Concentrations de sodium, chlore et calcium dans les différents spécimens (moyenne±SD).....	31
Figure 7 : Graphique de Bland-Altman représentant la différence entre les concentrations de potassium dans le plasma citraté et dans le plasma hépariné .....	32
Figure 8 : Graphique de Bland-Altman représentant la différence entre les concentrations de CO <sub>2</sub> dans le plasma citraté et dans le plasma hépariné .....	32
Figure 9 : Evolution de la concentration moyenne de CO <sub>2</sub> en fonction du temps dans le plasma et le sérum conservés à -20°C.....	38
Figure 10 : Evolution de l'activité moyenne de l'ALAT en fonction du temps dans le plasma et le sérum conservés à -20°C.....	39
Figure 11 : Evolution de la concentration moyenne de glucose en fonction de la durée du stockage dans les différents spécimens.....	43
Figure 12: Evolution de la concentration moyenne de potassium en fonction de la durée du stockage dans les différents spécimens.....	44
Figure 13: Evolution de la concentration moyenne de CO <sub>2</sub> en fonction de la durée du stockage dans les différents spécimens.....	44
Figure 14: Evolution de la concentration moyenne de phosphate en fonction de la durée du stockage dans les différents spécimens.....	45
Figure 15 : Evolution de la concentration moyenne d'urée en fonction du moment de la journée chez 8 chats à jeun .....	51
Figure 16 : Evolution de la concentration moyenne de CO <sub>2</sub> en fonction du moment de la journée chez 8 chats à jeun .....	51
Figure 17 : Evolution de la concentration moyenne de créatinine en fonction du moment de la journée chez 8 chats à jeun .....	52
Figure 18: Evolution de la concentration moyenne d'urée en fonction du temps chez les chats à jeun depuis 12 heures et ceux nourris .....	55
Figure 19 : Evolution de la concentration moyenne de créatinine en fonction du temps chez les chats à jeun depuis 12 heures et ceux nourris.....	56
Figure 20 : Evolution de la concentration moyenne de sodium en fonction du temps chez les chats à jeun depuis 12 heures et ceux nourris.....	56
Figure 21: Evolution de la concentration moyenne de CO <sub>2</sub> en fonction du temps chez les chats à jeun depuis 12 heures et ceux nourris .....	57
Figure 22: Evolution de la concentration moyenne de phosphate en fonction du temps chez les chats à jeun depuis 12 heures et ceux nourris.....	58

Figure 23: Evolution de la concentration moyenne de triglycérides en fonction du temps chez les chats à jeun depuis 12 heures et ceux nourris.....58

### Liste des Tableaux :

Tableau 1 : Techniques de dosages utilisées par l'analyseur Vitros 350.....	14
Tableau 2 : Préparation des spécimens de plasma hémolysé et concentrations théoriques d'hémoglobine....	25
Tableau 3 : Concentrations (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné et dans le sérum	26
Tableau 4 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le sérum et le plasma hépariné pour les variables influencées par l'utilisation de sérum.....	27
Tableau 5 : Concentrations (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné et dans le plasma EDTA.....	28
Tableau 6 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le plasma EDTA et le plasma hépariné pour les variables influencées par l'utilisation d'EDTA-K <sub>3</sub> .....	28
Tableau 7 : Concentrations (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné et dans le plasma citraté.....	30
Tableau 8 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le plasma citraté et le plasma hépariné pour les variables influencées par l'utilisation de citrate de sodium.....	30
Tableau 9 : Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le sérum en fonction de la durée de congélation.....	34
Tableau 10 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le sérum après 1, 3, 6 ou 12 mois de stockage à -20°C et lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par la durée de congélation du sérum .....	35
Tableau 11 : Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné en fonction de la durée de congélation .....	36
Tableau 12 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le plasma hépariné après 1, 3, 6 ou 12 mois de stockage à -20°C et lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par la durée de congélation du plasma hépariné.....	37
Tableau 13 : Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné en fonction de la durée de conservation du sang total à 20°C .....	40
Tableau 14 : Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné en fonction de la durée de conservation du sang total à 4°C .....	40
Tableau 15 : Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné en fonction de la durée de conservation du plasma à 20°C.....	41
Tableau 16 : Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné en fonction de la durée de conservation du plasma à 4°C.....	41
Tableau 17 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le plasma hépariné après 6, 24, 48 ou 168 heures de stockage du sang total à température ambiante et lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par la durée de conservation du sang total à température ambiante. ....	42
Tableau 18 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le plasma hépariné après 6, 24, 48 ou 168 heures de stockage du sang total à 4°C et lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par la durée de conservation du sang total à 4°C .....	46

Tableau 19 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le plasma hépariné après 6, 24, 48 ou 168 heures de stockage du plasma à température ambiante et lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par la durée de conservation du plasma à température ambiante.....	47
Tableau 20 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le plasma hépariné après 6, 24, 48 ou 168 heures de stockage du plasma à 4°C et lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par la durée de conservation du plasma à 4°C.....	48
Tableau 21 : Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné en fonction du moment de la journée chez les chats à jeun.....	49
Tableau 22 : Analyse de la différence entre les concentrations maximales et les concentrations minimales dans le plasma hépariné entre 8 heures et 20 heures chez les chats à jeun pour les variables influencées par l'heure de prélèvement. ....	50
Tableau 23 : Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné en fonction du moment de la journée chez les chats nourris à 8 h.....	53
Tableau 24 : Analyse de la différence entre les concentrations chez les chats nourris et les concentrations chez les chats laissés à jeun, prélevés à 8 h, 10 h, 12 h, 14 h, 16 h, 18 h et 20 h pour les variables influencées par l'interaction entre le statut (à jeun ou nourri) des chats et l'heure de prélèvement .....	54
Tableau 25 : Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné après un nombre variable de cycles de congélation/décongélation .....	59
Tableau 26 : Analyse de la différence entre les concentrations après 1, 2, 3 et 4 cycles de congélation/décongélation et la valeur de référence lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par les cycles de congélation/décongélation dans le plasma hépariné.....	60
Tableau 27 : Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le sérum après un nombre variable de cycles de congélation/décongélation.....	61
Tableau 28 : Analyse de la différence entre les concentrations après 1, 2, 3 et 4 cycles de congélation/décongélation et la valeur de référence lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par les cycles de congélation/décongélation dans le sérum. ....	62
Tableau 29 : Concentration plasmatique d'hémoglobine libre (mmol/L) de chacun des aliquots .....	63
Tableau 30 : Variations de l'analyte par rapport au spécimen de référence médiane [min ; max] en fonction de la concentration plasmatique d'hémoglobine .....	65
Tableau 31 : Biais lié à l'hémolyse sur le dosage des analytes biochimiques .....	66
Tableau 32 : Biais lié au choix de l'anticoagulant sur le dosage des analytes biochimiques .....	70
Tableau 33 : Biais lié à la durée de congélation à -20°C sur le dosage des analytes biochimiques dans le sérum (S) et le plasma hépariné (H).....	71
Tableau 34 : Biais lié à la durée de stockage du sang total à 20° sur le dosage des analytes biochimiques.....	73
Tableau 35 : Biais lié à la durée de stockage du sang total à 4°C sur le dosage des analytes biochimiques .....	74

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

ACTH : Adrénocorticotrophine

ALAT : Alanine Aminotransférase

ASAT: Aspartate Aminotransférase

ATP: Adénosine triphosphate

BPC : Bonnes pratiques cliniques

CV : Coefficient de variation

EDTA : Acide éthylène diamine tétraacétique

IR : Intervalle de référence

LDH : Lactate Deshydrogénase

LDL: Low Density Lipoprotein

PAL: Phosphatase Alcaline

SD: Ecart Type

VLDL: Very Low Density Lipoprotein



## INTRODUCTION

La population d'animaux de compagnie en France a diminué entre 2003 et 2010 passant de 65.5 millions à 59.2 millions. Mais les chats représentent une part de plus en plus importante de cette population. Les enquêtes menées par la FACCO et TNS Sofres ont montré que la proportion de chats parmi les animaux de compagnie a augmenté de 14.7 % en 2003 à 18.5 % en 2010.

D'autre part, ces mêmes études montrent que l'espérance de vie des animaux de compagnie a notablement augmenté, passant de 6.2 ans en 1982 à 11.1 ans en 2005, et ce grâce à une médicalisation plus importante et des visites plus fréquentes chez le vétérinaire.

Lors des consultations vétérinaires, les analyses biochimiques sont un examen complémentaire de choix afin d'évaluer le fonctionnement de différents organes dans un but diagnostique, ou de suivre l'évolution d'une affection. Mais ces résultats d'analyses de laboratoire sont influencés par de nombreuses sources d'erreurs. Les facteurs pré-analytiques sont parmi les sources d'erreurs les plus fréquentes et occasionnent 30 à 77 % des erreurs (Bonini et coll., 2002 ; Carraro et Plebani, 2007 ; Hooijberg et coll., 2012 ; Plebani et Carraro, 1997). Chez le chien et surtout chez l'homme, de nombreuses études ont déterminé l'influence de ces facteurs pré-analytiques sur les résultats d'analyses biochimiques. Chez le chat, ces études sont moins nombreuses.

L'objectif du présent travail est donc de déterminer l'influence de facteurs pré-analytiques couramment rencontrés sur les résultats d'analyses biochimiques de routine chez le chat sain et, par la suite, d'utiliser ces connaissances pour améliorer l'interprétation des résultats d'analyses biochimiques. Ce travail est divisé en deux parties. La première partie définit les différentes sources d'erreurs lors d'analyses de laboratoire, et plus particulièrement les facteurs pré-analytiques, et fait un état des connaissances actuelles sur l'influence des facteurs pré-analytiques sur les variables biochimiques plasmatiques ou sériques chez le chat sain. La seconde partie est une étude expérimentale qui évalue l'impact de différents facteurs pré-analytiques, conditions de stockage, anticoagulant utilisé, effet de l'hémolyse, du moment de prélèvement et du repas, sur les résultats d'analyses plasmatiques du glucose, de l'urée, de la créatinine, du sodium, du potassium, de chlore, du CO<sub>2</sub>, du calcium total, du phosphate, des protéines totales, de l'albumine, de l'ALAT, de la PAL, des triglycérides et du cholestérol chez le chat sain.

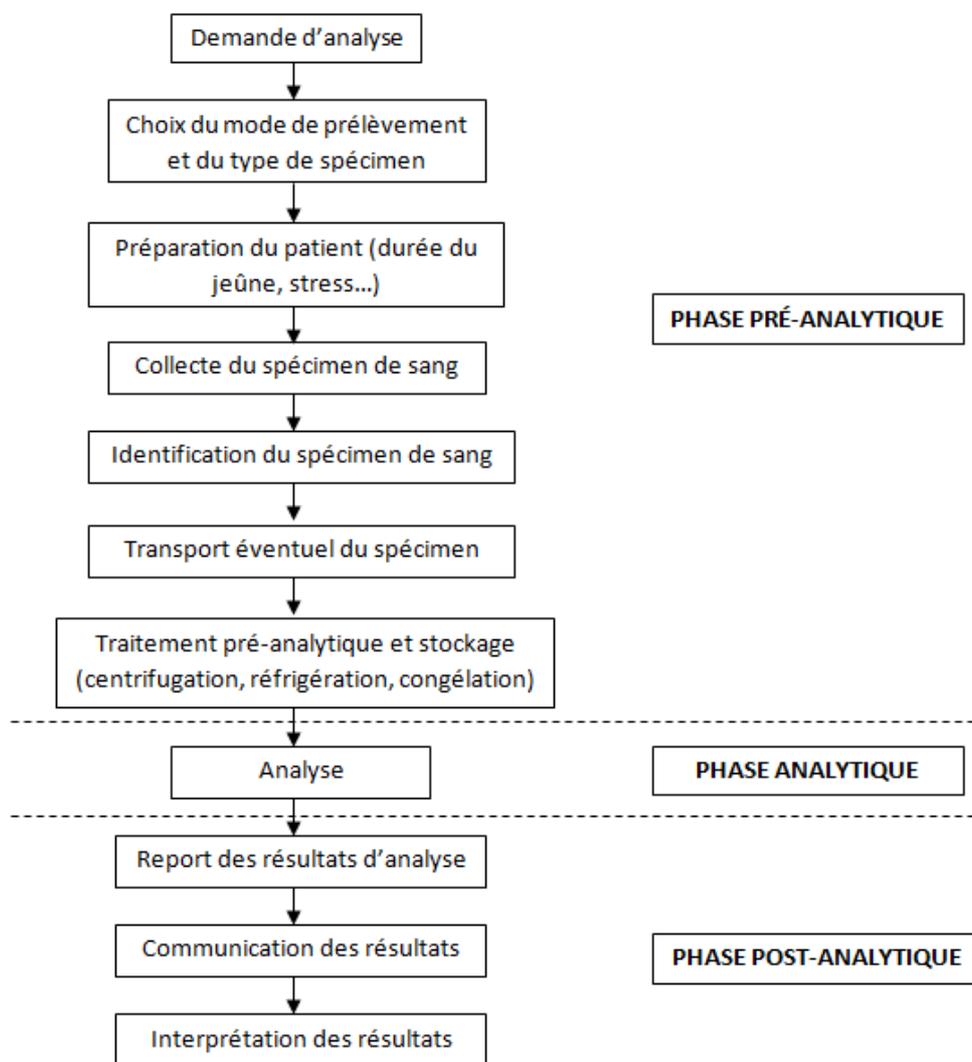
# 1. Partie Bibliographique

## 1.1. Sources d'erreurs des résultats d'analyses biochimiques

Les différentes étapes d'une analyse biochimique peuvent être séparées en 3 phases :

- La phase pré-analytique qui regroupe les étapes se produisant avant l'analyse du spécimen par le laboratoire.
- La phase analytique qui consiste dans l'analyse à proprement dite, au laboratoire.
- La phase post-analytique liée à la transmission et l'interprétation des résultats après la phase d'analyse.

Les différentes composantes de ces phases sont détaillées dans la figure 1 :



*Figure 1 : Phases menant à l'interprétation de résultats d'analyses biochimiques*

Ces phases sont composées de différentes étapes pouvant être, chacune, à l'origine d'erreurs dans l'obtention de résultats d'analyses exacts. Ces sources d'erreurs sont classées, de la même manière, en erreurs pré-analytiques, erreurs analytiques et erreurs post-analytiques.

Le pourcentage d'analyses ayant mené à des erreurs de laboratoire, toutes sources d'erreurs confondues, a diminué dans les laboratoires humains entre 1996 et 2006. Pendant cette période, ce taux est passé de 0.47 % à 0.31 % (Carraro et Plebani, 2007). De la même manière, il a diminué en médecine vétérinaire, passant de 1.3 % en 2003 à 0.9 % en 2010 (Hooijberg et coll., 2012).

Chez l'homme, les erreurs analytiques représentaient 13.3 % du nombre total d'erreurs en 1996 et 15.0 % des erreurs en 2006 (Bonini et coll., 2002 ; Carraro et Plebani, 2007 ; Plebani et Carraro, 1997). Les erreurs post-analytiques constituaient, quant à elles, 18.5 % des erreurs en 1996 et 23.1 % en 2006 (Bonini et coll., 2002 ; Carraro et Plebani, 2007 ; Plebani et Carraro, 1997).

En médecine vétérinaire, les données collectées auprès d'un laboratoire vétérinaire privé ont montré que le taux d'erreurs analytiques avait diminué entre 2003 et 2010 passant de 14.0 % à 7.0 %. Le taux d'erreurs post-analytiques a également diminué de 15.0 % à 9.0 % au cours de cette même période (Hooijberg et coll., 2012).

Enfin, depuis plusieurs années, les erreurs pré-analytiques sont devenues une préoccupation majeure dans le cadre des analyses et de leur interprétation car elles sont les plus fréquentes et représentent 30.0 à 77.0 % des erreurs commises au cours d'analyses, que ce soit en médecine vétérinaire ou en médecine humaine (Bonini et coll., 2002 ; Carraro et Plebani, 2007 ; Hooijberg et coll., 2012 ; Plebani et Carraro, 1997). Le taux d'erreurs pré-analytiques en médecine vétérinaire, contrairement aux autres sources d'erreurs, est en augmentation. Il est passé de 64.0 à 77.0 % entre 2003 et 2010 (Hooijberg et coll., 2012). Chez l'homme, les erreurs pré-analytiques les plus courantes sont l'hémolyse du spécimen, un spécimen dont le volume est insuffisant, une erreur dans le choix d'un spécimen, une erreur dans la demande d'analyse ou une erreur d'identification du patient (Bonini et coll., 2002). L'importance des erreurs pré-analytiques au cours du processus d'analyse peut s'expliquer par le fait que cette phase fait intervenir de nombreux acteurs, et que les étapes qui constituent cette phase pré-analytique sont souvent manuelles, contrairement à la phase analytique qui est automatisée (Hooijberg et coll., 2012 ; Plebani et Carraro, 1997).

Les conséquences de ces erreurs au cours d'analyses de laboratoire sont variables. Dans 70.0 à 75.0 % des cas, elles n'ont aucune conséquence pour le patient dans la mesure où les résultats restent dans l'intervalle des valeurs usuelles. Mais, chez l'homme, dans 5.6 % (Carraro et Plebani, 2007) à 23.0 % (Plebani et Carraro, 1997) des cas, d'autres analyses inappropriées ont été menées pour approfondir le diagnostic et dans 16.9 % (Carraro et Plebani, 2007) des cas, les analyses ont dû être répétées, ce qui affecte la prise en charge du patient.

Afin de limiter le nombre de ces erreurs pré-analytiques, des lignes directrices pour le choix et la collecte d'un spécimen et l'évaluation de sa validité doivent être mises en place.

## 1.2. Influence des facteurs pré-analytiques chez le chat

Les principales données disponibles dans la littérature concernant l'influence de facteurs pré-analytiques sur les résultats d'analyses biochimiques chez le chat sont détaillées dans les paragraphes suivants.

### 1.2.1. *Effet du repas et du moment du prélèvement*

Il est généralement recommandé d'effectuer les analyses biochimiques sur des animaux à jeun. Cependant, dans certaines circonstances telles que les urgences, le manipulateur devra interpréter des données en tenant compte d'une prise de nourriture récente. Le repas est à l'origine de modifications physiologiques importantes. Les nutriments ingérés sont absorbés et passent dans la circulation sanguine entraînant directement ou indirectement une modification de la concentration de plusieurs analytes. Les modifications dues au repas peuvent également interférer avec certaines méthodes de dosage.

La glycémie augmente après une prise de nourriture avec un pic représentant une hausse de 42.0 % à 112.0%, 2 à 6 heures après le repas (Bartges et Osborne, 1995 ; Farrow et coll., 2012 ; Hewson-Hughes et coll., 2011). Cette élévation de la glycémie peut durer 4 à 12.2 heures après la prise de nourriture (Farrow et coll., 2012 ; Hewson-Hughes et coll., 2011). L'amplitude des variations diffère en fonction de la composition du repas. Si le repas consommé est riche en glucose, la glycémie augmente (Hewson-Hughes et coll., 2011 ; Martin et Rand, 1999). En revanche, s'il est riche en protéines, la concentration sérique de glucose diminue (Bartges et Osborne, 1995). L'hyperlipémie qui peut être présente après un repas engendre une turbidité du sérum et interfère avec le dosage du glucose par spectrophotométrie (Bartges et Osborne, 1995).

Les électrolytes sont également affectés par le repas. La concentration plasmatique de chlore diminue après un repas tandis que celles de bicarbonates et de CO<sub>2</sub> total augmentent (Bartges et Osborne, 1995). L'absorption de glucides induit également une baisse de la concentration sérique de phosphate, de potassium et de calcium (Bartges et Osborne, 1995). Enfin, un repas riche en protéines peut entraîner une hausse de la concentration plasmatique de phosphate (Bartges et Osborne, 1995). Les concentrations plasmatiques des électrolytes, lorsque le dosage est effectué par photométrie de flamme, sont diminuées en cas d'hyperlipémie, après le repas (Burkhard et Meyer, 1995).

Par ailleurs, les concentrations de créatinine, d'urée, d'acide urique et d'ammonium dans le sérum ou dans le plasma augmentent après la consommation d'un repas riche en protéines

(Bartges et Osborne, 1995), mais les concentrations sériques d'urée et d'acide urique diminuent lors de la consommation d'un repas riche en graisses (Bartges et Osborne, 1995). La concentration plasmatique de protéines mesurée par réfractométrie est augmentée lors d'hyperlipémie post-prandiale (Burkhard et Meyer, 1995).

Enfin, la consommation d'un repas riche en graisses entraîne une augmentation de la lipémie avec une hausse des concentrations de triglycérides et de cholestérol (Bartges et Osborne, 1995). A l'inverse, l'absorption de glucides fait diminuer ces concentrations dans le sérum ainsi que celles de Very Low Density Lipoprotein (VLDL) et de Low Density Lipoprotein (LDL) (Bartges et Osborne, 1995).

Le jeûne affecte aussi la concentration des analytes biochimiques sanguins chez le chat. Il entraîne une diminution de la glycémie et de la concentration de potassium alors que la concentration plasmatique de sodium, ainsi que les activités sériques d'Alanine Aminotransférase (ALAT) et d'Aspartate Aminotransférase (ASAT), augmentent (Bartges et Osborne, 1995). Le jeûne induit, par ailleurs, une augmentation de la concentration sérique de créatinine lorsque la méthode de Jaffé est utilisée (Allen et Toll, 1995). En effet au cours du jeun, de l'acétoacétate est produit et constitue un chromogène qui interfère avec le dosage de la créatinine (Allen et Toll, 1995).

Une carence prolongée en protéines peut entraîner une diminution de la concentration d'albumine et des activités sériques de la Phosphatase Alcaline (PAL) et de l'ALAT (Burkhard et Meyer, 1995).

Chez l'homme, certains analytes comme le cortisol, le glucose et le potassium, subissent des variations au cours de la journée sous l'influence de différentes hormones. Cependant, à notre connaissance, aucune étude n'a déterminé les variations circadiennes des analytes biochimiques chez le chat.

### *1.2.2. Effet du choix de l'anticoagulant*

Les principaux anticoagulants disponibles pour la collecte du sang, en pratique, sont l'héparinate de lithium, l'acide éthylène diamine tétraacétique (EDTA), et le citrate. Chacun est utilisé dans des conditions précises et son emploi est lié à son mode d'inhibition de la coagulation :

- L'EDTA est l'anticoagulant de routine pour les analyses hématologiques. L'EDTA-K<sub>3</sub> chélate les cations bivalents (Ca<sup>2+</sup>, Mg<sup>2+</sup>) et ces ions sont alors indisponibles pour la coagulation. Avec l'EDTA, la concentration de calcium mesurée est donc diminuée.

- Le citrate de sodium est utilisé pour la mesure des temps de coagulation. Il se lie également aux ions  $\text{Ca}^{2+}$ , mais cette liaison est réversible par addition de calcium. La concentration de calcium est également diminuée lors de l'utilisation de citrate.
- L'héparinate de lithium est l'anticoagulant de référence pour les analyses biochimiques. Il accélère l'action de l'antithrombine. Cet anticoagulant ne perturbe donc pas les dosages (Gilor et Gilor, 2011 ; Tammen ; Young et Bermes, 1986).

Une difficulté technique lors du prélèvement, ou une erreur dans le choix du tube, peuvent amener le vétérinaire à utiliser un même tube pour des analyses variées. Il doit alors savoir quelles sont les variables biochimiques qui pourront être dosées avec chaque anticoagulant.

Il existe peu d'études envisageant l'effet du choix de l'anticoagulant sur la concentration des analytes biochimiques chez le chat. Gunn-Moore et coll. ont montré, en 2006, que la concentration de potassium est plus élevée de 13.7 % dans le sérum que dans le plasma hépariné. Cette différence est présente lorsque le spécimen est analysé immédiatement après la collecte. Elle est moins importante de 2.5 % lorsque l'analyse est effectuée 48 heures après la collecte, et que les spécimens sont conservés sous forme de sang total hépariné ou sur tube sec. Dans le plasma hépariné ou le sérum, la concentration de potassium est plus importante respectivement de 19.4 % ou 7.7 % lorsque la centrifugation est retardée de 48 heures par rapport à la collecte du sang par comparaison avec la concentration obtenue lors d'une analyse immédiate (Gunn-Moore et coll., 2006).

L'EDTA et le citrate sont des anticoagulants chélateurs d'ions métalliques ou cations monoatomiques ( $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{Mg}^{2+}$ ...) qui sont souvent des catalyseurs de l'activité enzymatique. Ces anticoagulants ne constituent donc pas des anticoagulants corrects pour le dosage de l'activité d'enzymes (Kaneko et coll., 1997 ; Young et Bermes, 1986).

### 1.2.3. Effet de l'hémolyse

L'hémolyse est un motif majeur de rejet des échantillons en laboratoire. Elle peut avoir lieu *in vivo*, mais le plus souvent, elle se produit *in vitro* (Meinkoth et Allison, 2007), au moment du prélèvement s'il est traumatique, ou par la suite, lors des traitements successifs de l'échantillon de sang. Par exemple, l'utilisation d'une aiguille trop fine ou une aspiration trop brusque engendrent l'éclatement des globules rouges (Carraro et coll., 2000 ; Kroll et Elin, 1994). Ceci peut également se produire si le prélèvement n'est pas assez rapidement centrifugé et le sérum, ou le plasma séparé, ou si un échantillon de sang total est congelé (Meinkoth et Allison, 2007).

Chez le chat, comme chez le chien, l'hémolyse interfère avec certaines méthodes de dosage et notamment la spectrophotométrie. Par ailleurs, les constituants présents en concentration

plus importante dans les globules rouges que dans le sérum voient leur concentration augmenter lors d'hémolyse. C'est le cas de l'activité de l'ASAT et de la Lactate Deshydrogénase (LDH), et de la concentration de phosphate (Burkhard et Meyer, 1995 ; Kaneko et coll., 1997). En revanche, contrairement à l'homme, la concentration de potassium dans les globules rouges et dans le plasma/sérum est sensiblement identique. L'hémolyse a donc peu d'influence sur la concentration sérique ou plasmatique de potassium chez le chat et le chien (Gilor et Gilor, 2011).

#### *1.2.4. Effet des conditions de stockage*

Après la collecte, le spécimen peut être conservé pour d'éventuelles analyses ultérieures. Parfois, pour des raisons pratiques et de temps, l'analyse et/ou la centrifugation sont retardées par rapport au moment du prélèvement. Ce spécimen est alors stocké dans des conditions variables (réfrigération, congélation...) et pendant une durée plus ou moins longue. L'impact de ces pratiques sur le dosage des analytes courants doit être pris en compte pour éviter une mauvaise interprétation des résultats.

Il a été montré que la plupart des paramètres biochimiques sont stables dans le plasma ou le sérum conservés à 4°C pendant au moins 24 heures (Burkhard et Meyer, 1995 ; Fontaine et coll., 1987).

Les hormones telles que l'adrénocorticotrophine (ACTH), l'insuline, la gastrine sont dégradées à température ambiante et doivent être conservées au froid (Burkhard et Meyer, 1995).

La concentration plasmatique de glucose, lors de l'utilisation de fluorure de sodium comme anticoagulant, n'est stable que 12 heures à 4°C puis elle augmente jusqu'à 37.0 % après 96 heures de stockage. A température ambiante, cette augmentation est plus marquée et atteint 154.0 % après 96 heures (Fontaine et coll., 1987). En revanche, dans le sérum, la concentration de glucose est stable 48 heures à 4°C puis elle diminue jusqu'à 10.0 % après 96 heures de stockage. Enfin, lorsque le spécimen est conservé à température ambiante, la diminution de la concentration sérique de glucose est plus importante et atteint 75.0 % après 96 heures (Fontaine et coll., 1987).

La concentration de protéines totales est stable 96 heures dans le sérum maintenu à température ambiante ou à 4°C (Fontaine et coll., 1987).

L'activité sérique de l'ALAT diminue de 25.0 % lorsque le spécimen de sérum est conservé 4 jours à température ambiante ou de 22.0 % lorsque ce spécimen est stocké 8 jours à 4°C (Kaneko et coll., 1997).

Pour finir, l'activité sérique de la PAL diminue lorsque le sang total est stocké à température ambiante ou à 4°C. Selon Fontaine et coll. (1987), cette diminution atteint 37.0 % après 96 heures de stockage à température ambiante alors qu'elle n'est que de 12.0 % lorsque le sang

total est conservé à 4°C. Selon Kaneko et coll. (1997), la diminution de l'activité sérique de la PAL est similaire (29.0 %) lorsque le sérum est stocké 8 jours à température ambiante ou à 4°C.

Reynolds et coll. (2008a) ont montré que les concentrations plasmatiques de protéines totales, d'albumine, de créatinine, d'urée, d'ALAT, de PAL, de glucose, de calcium, de phosphate, de sodium, de chlore, de potassium, et de CO<sub>2</sub> sont stables lorsque le plasma est conservé pendant 5 jours à -20°C. Mais, Kaneko et coll. (1997) ont montré que les activités de la PAL et de l'ALAT sont diminuées respectivement de 32.0 et 69.0 % lorsque le sérum est conservé 8 jours congelé.

#### *1.2.5. Effet de la méthode de collecte*

La réalisation d'une prise de sang peut être difficile chez le chat. Plusieurs méthodes de collecte ont donc été étudiées pour faciliter cet acte. Lorsque le prélèvement est effectué en utilisant un système capillaire à la veine céphalique plutôt qu'à la veine jugulaire avec un tube sous vide, seule la PAL a montré une augmentation de 17.0 % de son activité plasmatique (Reynolds et coll., 2007). Une étude précédente a montré que l'activité plasmatique de la PAL augmente de 71.0 % dans un spécimen issu de la veine jugulaire par rapport à un spécimen issu de la veine céphalique (O'Brien et coll., 1998). L'activité plasmatique de l'ALAT est aussi modifiée par le choix du site de ponction. Elle augmente de 21.7 % en cas de collecte à partir de la veine céphalique au lieu de la veine jugulaire (O'Brien et coll., 1998).

Une autre méthode de prélèvement a également été étudiée : il s'agit d'un prélèvement à la veine auriculaire (Jacobsen et Jensen, 1998). Les concentrations plasmatiques des analytes biochimiques ne sont pas modifiées par ce type de prélèvement par rapport à un prélèvement à la veine céphalique. Seule la concentration d'hémoglobine dans le plasma EDTA diminue de 0.4 mmol/L en moyenne lors d'un prélèvement à la veine auriculaire (Jacobsen et Jensen, 1998).

Le glucose est également un analyte fortement influencé par le mode de prélèvement car le stress provoque une hyperglycémie transitoire (Burkhard et Meyer, 1995). Rand et coll. (2002) ont montré que l'augmentation de la glycémie moyenne suite à l'exposition à un stress atteignait 74 mg/dL soit une augmentation de 89.2 % de la valeur moyenne de base (83 mg/dL).

### *1.2.6. Effet du mode de vie*

Les concentrations plasmatiques de phosphate, de CO<sub>2</sub> total et l'activité de la PAL dans le plasma augmentent respectivement de 7.9 %, 5.9 % et 24.6 %, tandis que la concentration de chlore diminue de 0.8 % chez les chats vivant à l'intérieur par rapport à ceux vivant à l'extérieur (Reynolds et coll., 2008a).

### *1.2.7. Effet des facteurs liés à l'animal*

Les concentrations plasmatiques de glucose, d'albumine, de protéines totales et de créatinine augmentent avec le poids du chat. La concentration de glucose est plus élevée de 16.7 % chez des chats de plus de 5 kg par rapport à des chats de moins de 4 kg. Les concentrations d'albumine, de protéines totales et de créatinine sont respectivement plus importantes de 6.2 %, 4.0 % et 13.4 % chez les chats de plus de 5 kg par rapport à ceux de moins de 4 kg (Reynolds et coll., 2008a).

La concentration plasmatique de glucose augmente avec l'âge du chat tandis que celles de phosphate et d'albumine diminuent. La concentration de glucose est plus élevée de 15.1 % chez des chats de plus de 9 ans par rapport à des chats de moins de 4 ans. A l'inverse, les concentrations de phosphate et d'albumine sont plus basses respectivement de 11.8 % et 5.9 % chez les chats de plus de 9 ans par rapport à ceux de moins de 4 ans (Reynolds et coll., 2008a).

La concentration plasmatique de CO<sub>2</sub> total est plus élevée de 15.8 % chez les mâles que chez les femelles (Reynolds et coll., 2008a).

On peut constater, à travers ces différents articles, que dans l'espèce féline, les études démontrant l'influence de la phase pré-analytique sont relativement peu nombreuses.

L'étude expérimentale suivante vise donc à évaluer l'influence de différents facteurs pré-analytiques sur les analytes biochimiques couramment utilisés chez un chat sain.

## **2. Partie expérimentale.**

L'objectif de ce travail expérimental a été de déterminer l'effet de différents facteurs pré-analytiques sur les résultats d'analyses des variables plasmatiques utilisées en routine vétérinaire chez le chat sain.

### 2.1. Matériels et méthodes

L'étude a été réalisée en conditions contrôlées, dans le respect des bonnes pratiques cliniques (BPC).

Elle est séparée en 6 expérimentations portant respectivement sur:

- L'effet de l'anticoagulant (réalisée le 15/09/2011)
- L'effet de la congélation à -20°C sur une longue durée (réalisée le 15/09/2011)
- L'effet de la conservation du plasma hépariné ou du sang total à température ambiante ou à 4°C (réalisée le 22/11/2011 et le 04/12/2011)
- L'effet du moment de prélèvement au cours de la journée et l'effet du repas (divisée en 2 séances de prélèvement réalisées le 08/03/2012 et le 20/03/2012)
- L'effet de cycles congélation/décongélation successifs sur une courte période (réalisée le 23/04/2012)
- L'effet d'un degré variable d'hémolyse (réalisée le 25/06/2012)

### *2.1.1. Animaux*

17 chats ont participé à l'étude. Lors de chaque séance d'expérimentation, 6 à 11 chats ont été utilisés.

Seuls les animaux jugés en bonne santé, sur la base d'un examen clinique et d'un bilan biochimique normaux, ont été inclus. Parmi ces chats, ceux dont le comportement ne permettait pas de réaliser une prise de sang n'ont pas été utilisés.

Les chats (10 femelles et 7 mâles) étaient de race British Shorthair ou Européen. Ils étaient âgés de 4.6 ans en moyenne (min : 3.5 ans ; max : 5.1 ans), et leur poids moyen était de 4.2 kg (min : 3.0 kg ; max : 4.9 kg).

Dans le cadre de l'étude, chaque chat a été identifié à l'aide d'une lettre (de A à Q).

Les caractéristiques de ces animaux sont résumées dans un tableau (Annexe 1).

Les animaux étaient déjà acclimatés à leur environnement. Ils étaient logés dans une chatterie. Le cycle lumineux était 12 heures de lumière/12 heures d'obscurité par jour. La ventilation était de 20 renouvellements d'air par heure.

Les animaux étaient nourris tous les matins, entre 8h et 8h30. Ils avaient accès à l'eau à volonté. Chaque chat recevait alors 65 g de croquettes Royal Canin Neutered (Matière sèche : 35.0 % de protéines brutes, 10.0 % de matière grasse et 31.0 % de glucides). La distribution approximative de l'énergie apportée est donc la suivante : les protéines représentent 38.8 % de l'énergie métabolisable apportée par le repas, la matière grasse 26.9 % et les glucides 34.3 %. Cette distribution a été calculée grâce à la formule d'Atwater modifiée.

Les chats ont été mis à jeun 12 heures avant le début de chaque séance de prélèvement. Ils ont été maintenus à jeun durant toutes les séances à l'exception de celle permettant d'étudier l'effet de la prise de nourriture.

Si, au cours d'une séance de manipulation, un animal venait à présenter un comportement ne permettant plus de réaliser une prise de sang, l'investigateur principal pouvait décider de retirer cet animal de la séance de manipulation.

A la fin de l'étude, l'ensemble des animaux sont retournés dans leur colonie d'origine.

### *2.1.2. Prélèvement sanguin*

La région jugulaire a été tondu le jour même. Les prises de sang ont ensuite été effectuées chez les chats selon 2 modalités différentes. Dans la plupart des cas, le sang a été collecté par ponction d'une des veines jugulaires dans des tubes sous-vide (Venoject®, Terumo Europe N.V., Leuven, Belgium), en utilisant des aiguilles de 21 Gauge (Venoject Luer Adapter®, Terumo N.V., Leuven, Belgium) et un porte-tube. Lors de la manipulation étudiant les variations circadiennes et l'effet du repas, en revanche, les prélèvements sanguins étant plus fréquents, de plus petits volumes ont été prélevés dans la veine jugulaire à l'aide d'une aiguille de 21 Gauge (Neolus®, Terumo N.V., Leuven, Belgium) montée sur une seringue de 2 mL (Injekt®, B Braun, Melsungen, Germany). Le sang collecté a ensuite été transvasé dans des tubes de 1mL contenant de l'héparinate de lithium (Aquisel®, JP Selecta, Barcelona, Spain).

### *2.1.3. Gestion des prélèvements*

Chaque tube a été identifié de manière individuelle tout de suite après le prélèvement.

Puis, les tubes sans anticoagulant ont été immédiatement placés verticalement dans un support. Les autres tubes, contenant un anticoagulant, ont été délicatement homogénéisés en les retournant 10 fois, puis également placés dans un support.

Le support contenant les tubes a été amené au laboratoire. Les tubes ont alors été traités, et les spécimens ont été séparés en aliquots. Chaque aliquot a ensuite été identifié.

Les séances d'expérimentation auxquelles ont participé chacun des chats, ainsi que les volumes prélevés, sont récapitulés dans un tableau (Annexe 1).

### *2.1.4. Dosage des analytes sériques et plasmatiques*

Les différents échantillons prélevés ont été centrifugés pendant 5 minutes à 4000 rpm (Rotofix 32A, Hettich Zentrifugen, Tuttlingen, Germany ou GR 422, Jouan, St-Herbelin, France).

Les dosages des concentrations plasmatiques ou sériques effectués sur les différents spécimens obtenus au cours de ces manipulations ont été réalisés avec un analyseur Vitros 350 (Vitros chemistry system ; Ortho-Clinical Diagnostics, Raritan, NJ) utilisant une technologie « multilayer dry slide » pour les analytes suivants : le sodium, le potassium, le chlore, le CO<sub>2</sub>, le calcium, le phosphate, les protéines totales, l'albumine, l'urée, la créatinine, l'ALAT, la PAL, et le glucose. Les triglycérides et le cholestérol ont été ajoutés au panel d'analytes dosés lors de l'étude de l'effet du moment de prélèvement et du repas.

Les méthodes de dosage utilisées par cet analyseur pour le dosage des différents analytes sont référencées dans le tableau 1 :

*Tableau 1 : Techniques de dosages utilisées par l'analyseur Vitros 350*

	<b>Méthode de dosage</b>	<b>Plage d'analyse</b>	<b>Répétabilité : CV(%)</b>
<b>Glucose (mmol/L)</b>	Colorimétrique (Glucose oxidase, peroxidase)	1.1 - 34.7	0.25
<b>Urée (mmol/L)</b>	Colorimétrique (Uréase)	0.7 - 42.8	1.00
<b>Créatinine (μmol/L)</b>	Enzymatique (Créatinine Amidinohydrolase)	4 - 1238	1.00
<b>Protéines totales (g/L)</b>	Colorimétrique (Tartrate de cuivre)	20 - 110	0.30
<b>Albumine (g/L)</b>	Colorimétrique (Vert de Bromocrésol)	10-60	0.95
<b>Calcium (mmol/L)</b>	Colorimétrique (Arsenazo III)	0.25 – 3.49	0.60
<b>Phosphates (mmol/L)</b>	Colorimétrique (Molybdate)	0.16 – 4.20	0.30
<b>Sodium (mmol/L)</b>	Potentiométrique (électrode sélective ionique)	75 - 250	0.35
<b>Chlore (mmol/L)</b>	Potentiométrique (électrode sélective ionique)	50 - 175	0.60
<b>Potassium (mmol/L)</b>	Potentiométrique (électrode sélective ionique)	1 - 14	0.75
<b>CO<sub>2</sub> total (mmol/L)</b>	Enzymatique (Phosphoenolpyruvate carboxylase /malate deshydrogenase)	5 - 40	1.55
<b>ALAT (U/L)</b>	Enzymatique (L-alanine et α-acetoglutarate comme substrat)	6 - 1000	1.25
<b>PAL (U/L)</b>	Enzymatique (p-nitrophenyl phosphate comme substrat)	20 - 1500	1.55
<b>Triglycérides (mmol/L)</b>	Colorimétrique (L-α-glycerolphosphate oxidase)	0.1 – 5.9	0.60
<b>Cholestérol (mmol/L)</b>	Colorimétrique (Cholesterol oxidase)	1.3 – 8.40	0.75

Les coefficients de variations (CV) cités dans ce tableau ont été déterminés en 2012 lors de la détermination de l'effet d'une sédation avec de la kétamine à faible dose et du valium (Reynolds et coll., 2012). Ces CV ont été déterminés en dupliquant des analyses avec des solutions de contrôle humaines, le matin et l'après-midi, pendant 5 jours consécutifs. L'hémoglobine libre a, elle, été dosée lors de l'étude de l'effet de l'hémolyse avec un analyseur Sysmex XT-2000i (Sysmex, Kobe, Japan) grâce à une méthode utilisant le sulfate sodique de lauryle (SSL).

#### 2.1.5. Etude 1 : Effet de l'anticoagulant sur les résultats d'analyses biochimiques

##### a. Objectif

L'objectif était d'évaluer l'effet de différents anticoagulants sur les concentrations plasmatiques des analytes biochimiques. Le spécimen de référence était le spécimen utilisant l'héparinate de lithium comme anticoagulant.

##### b. Traitement des spécimens

Pour cette séance de prélèvement, 11 chats (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J et K) ont été utilisés (Annexe 1).

Quatre tubes ont été prélevés dans l'ordre suivant : 1 tube sans anticoagulant, et 3 autres tubes avec chacun un anticoagulant différent, le citrate de sodium, l'héparinate de lithium et l'EDTA-K<sub>3</sub>.

Tous les tubes ont été stockés à température ambiante (20°C) pendant 30 minutes durant lesquelles le sang dans le tube sans anticoagulant a formé un caillot qui s'est ensuite rétracté. Ils ont ensuite été centrifugés. Le sérum et chaque type de plasma ont chacun été séparés en 5 aliquots immédiatement après la centrifugation. Ces aliquots ont été placés dans des tubes Eppendorf. Une analyse biochimique a été réalisée immédiatement dans un seul de ces aliquots et les 4 autres ont été congelés à -20°C immédiatement pour être utilisés lors d'une autre expérimentation.

L'analyse des spécimens de plasma et de sérum a eu lieu 4 à 9 minutes après leur centrifugation.

##### c. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont d'abord été analysés selon un modèle général linéaire  $Y_{i,j} = \mu + \text{Chat}_i + \text{Specimen}_j + \varepsilon_{i,j}$  où  $Y_{i,j}$  est la valeur observée pour le chat  $i$  ( $i = 1$  à  $11$ ) dans le spécimen  $j$  ( $j =$  le sérum (S), le plasma sur citrate de sodium (C), sur héparinate de lithium (H) ou sur EDTA-K<sub>3</sub> (E)).  $\varepsilon_{i,j}$  est l'erreur résiduelle du modèle. Lorsque le choix de

l'anticoagulant avait un effet significatif sur une variable, les résultats obtenus pour cette variable ont été comparés deux à deux avec les valeurs obtenues dans le plasma hépariné avec un test de Tukey. Une valeur de  $p < 0.05$  a été considérée comme significative.

#### 2.1.6. Etude 2 : Stabilité à long terme des analytes biochimiques dans le plasma et le sérum congelés et stockés à $-20^{\circ}\text{C}$

##### a. Objectif

L'objectif était d'étudier l'effet d'une durée prolongée de stockage du spécimen à  $-20^{\circ}\text{C}$  sur les concentrations des variables biochimiques de routine dans le plasma hépariné et le sérum chez le chat sain. Les spécimens de référence étaient les spécimens de plasma hépariné ou de sérum n'ayant subi aucune congélation. Ceux-ci étaient également les spécimens de sérum et de plasma hépariné utilisés lors de l'étude 1.

##### b. Traitement des spécimens

Pour cette séance de prélèvement, 11 chats (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J et K) ont été utilisés (Annexe 1).

Un tube sang anticoagulant et un tube contenant de l'héparinate de lithium ont été prélevés chez chacun des chats lors de la première séance d'expérimentation. Le sérum et le plasma hépariné ont chacun été séparés en 5 aliquots de  $250\ \mu\text{L}$ . Un aliquot de plasma hépariné et un de sérum ont été dosés immédiatement après leur préparation. Il s'agit des aliquots de sérum et de plasma hépariné utilisés pour l'étude de l'effet du spécimen. Les 4 autres aliquots de sérum et de plasma hépariné ont été immédiatement congelés à  $-20^{\circ}\text{C}$ .

Quatre semaines après leur préparation (Mois 1), un aliquot de sérum et un de plasma hépariné congelés pour chaque chat, ont été sortis du congélateur et laissés à température ambiante jusqu'à ce qu'ils soient décongelés avant d'être analysés. Le même procédé a été appliqué 12 semaines après la préparation des aliquots (Mois 3), 20 semaines après la préparation des aliquots (Mois 6), et 52 semaines après la préparation des aliquots (Mois 12).

Tous les aliquots de plasma ou de sérum ont été analysés entre 4 et 34 minutes après la fin de leur décongélation. Seul un aliquot a été analysé 104 minutes après sa décongélation.

##### c. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été analysés, en premier lieu, selon un modèle général linéaire  $Y_{i,j} = \mu + \text{Chat}_i + \text{Temps}_j + \varepsilon_{i,j}$  où  $Y_{i,j}$  est la valeur observée pour le chat  $i$  ( $i = 1$  à  $11$ )  $j$  mois

après le prélèvement ( $j = 0, 1, 3, 6$  ou  $12$ ).  $\epsilon_{i,j}$  est l'erreur résiduelle du modèle. Ce même modèle a été appliqué dans le plasma hépariné et dans le sérum séparément.

Dans chaque type de spécimen, lorsque la durée de congélation avait un effet significatif sur une variable, les résultats obtenus pour cette variable ont été comparés deux à deux avec la valeur dans le spécimen de référence avec un test de Dunnett. Une valeur de  $p < 0.05$  a été considérée comme significative.

### *2.1.7. Etude 3 : Effets du délai de centrifugation, de la durée et de la température de stockage des échantillons de plasma/sang total hépariné sur les résultats d'analyses biochimiques*

#### a. Objectif

L'objectif était de documenter les effets d'un délai de centrifugation et de la durée du stockage de sang total ou de plasma hépariné à température ambiante ou à  $4^{\circ}\text{C}$  sur les résultats d'analyses des variables biochimiques de routine chez le chat. Le spécimen de référence, dans chacune des conditions de stockage, était le spécimen analysé immédiatement après le prélèvement.

#### b. Traitement des spécimens

Pour cette séance de prélèvement, 8 chats (C, E, F, M, N, O, P et Q) ont été utilisés (Annexe 1).

Douze millilitres de sang ont été collectés dans 4 tubes de 3 mL contenant de l'héparinate de lithium chez chaque chat.

Deux des tubes de sang total hépariné ont été séparés en 9 aliquots de 0.6 mL placés dans des tubes Eppendorf. Un aliquot a immédiatement été centrifugé et analysé, 4 ont été laissés à température ambiante et les 4 restants ont été stockés à  $4^{\circ}\text{C}$  jusqu'à ce qu'ils soient analysés.

Les deux autres tubes ont été immédiatement centrifugés. Les surnageants de plasma ont été séparés en 8 aliquots de 0.4 mL placés dans des tubes Eppendorf. Quatre aliquots ont été laissés à température ambiante et les 4 restants ont été placés à  $4^{\circ}\text{C}$  jusqu'à ce qu'ils soient analysés.

Six heures après le prélèvement, un aliquot de sang total et un aliquot de plasma ont été retirés du réfrigérateur. Un aliquot de sang total et un aliquot de plasma conservés à température ambiante ont également été utilisés. Les deux aliquots de sang total ont été centrifugés. Ils ont été analysés en même temps que les deux aliquots de plasma.

La même opération a été répétée 24 heures, 48 heures, et 7 jours après la préparation des spécimens (Figure 2).

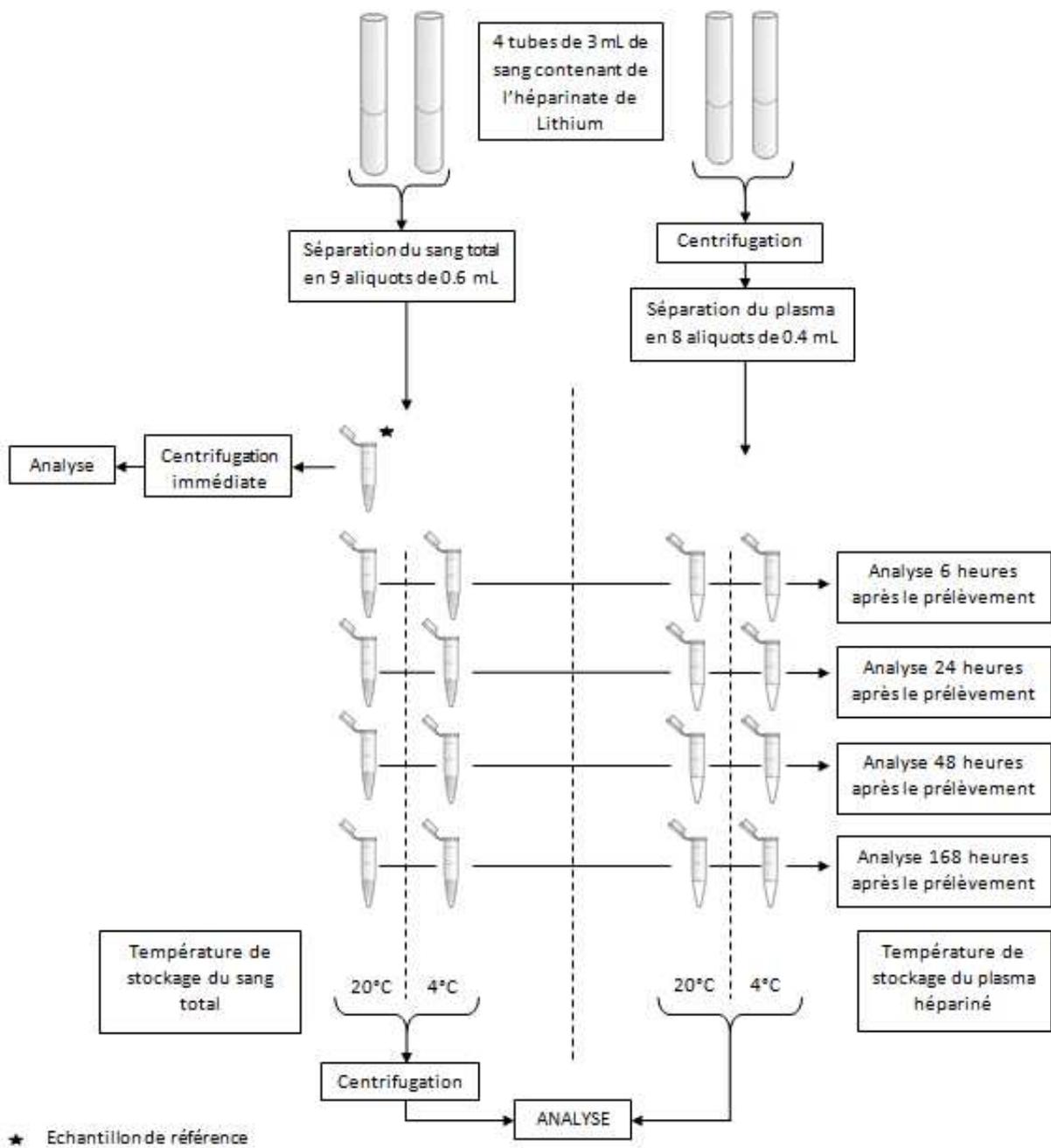


Figure 2 : Traitement des spécimens pour l'étude 3

Les aliquots de sang total ont été analysés 6 à 24 minutes après leur centrifugation.

Les aliquots de plasma réfrigéré ont été analysés 4 à 25 minutes après la sortie du réfrigérateur.

### c. Analyse statistique

Tout d'abord, les valeurs obtenues ont été analysées selon le modèle général linéaire  $Y_{ij} = \mu + \text{Chat}_i + \text{Temps}_j + \varepsilon_{ij}$  où  $Y_{ij}$  est la valeur observée pour le chat  $i$  ( $i = 1$  à  $8$ ) après  $j$  heures de

stockage ( $j = 0, 6, 24, 48$  ou  $168$  heures).  $\epsilon_{i,j}$  est l'erreur résiduelle du modèle. Ce modèle a été appliqué séparément pour un stockage de sang total à  $20^{\circ}\text{C}$  ou à  $4^{\circ}\text{C}$  ou de plasma hépariné à  $20^{\circ}\text{C}$  ou à  $4^{\circ}\text{C}$ .

Dans chaque type de spécimen, lorsque la durée de conservation avait un effet significatif sur une variable, les résultats obtenus pour cette variable après 6 heures, 24 heures, 48 heures, ou 7 jours de stockage ont été comparés deux à deux avec la valeur dans le spécimen de référence avec un test de Tuckey. Une valeur de  $p < 0.05$  a été considérée comme significative.

#### 2.1.8. Etude 4 : Effet du moment de prélèvement et du repas sur les résultats d'analyses biochimiques

##### a. Objectif

L'objectif était d'évaluer les variations des variables plasmatiques de routine, chez le chat sain, au cours de la journée, ainsi que l'effet sur ces mêmes variables de la prise de nourriture. En ce qui concerne l'effet des variations circadiennes, le spécimen de référence était celui obtenu à 8 heures chez les chats à jeun. Dans le cadre de l'étude de l'effet du repas à chaque heure de prélèvement, le spécimen de référence est le spécimen collecté à la même heure chez les animaux restés à jeun.

##### b. Traitement des spécimens

Pour cette expérimentation, un plan d'étude en carré latin, sur 2 séances de prélèvement, a été mis en place. Les 8 chats sélectionnés ont été divisés en 2 groupes : lors de la première séance de prélèvement, 4 chats sont restés à jeun et les 4 autres ont reçu leur repas habituel juste après la première prise de sang. Lors de la seconde séance de prélèvement, la même manipulation a été effectuée, sur les mêmes chats, mais les 2 groupes ont été inversés (Figure 3).

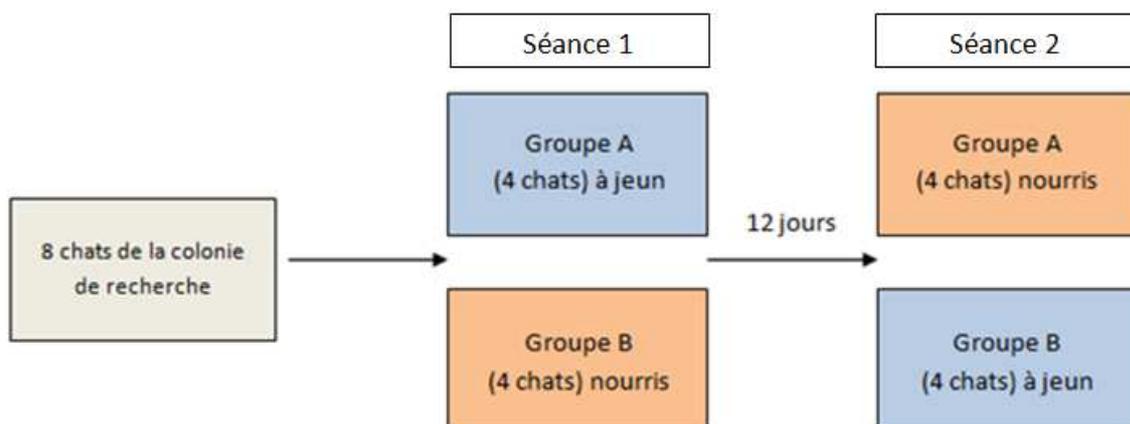


Figure 3 : Plan en carré latin pour l'étude 4

Pour ces séances de prélèvement, 8 chats (A, E, F, L, M, O, P et Q) ont été utilisés (Annexe 1).

Les 8 chats sélectionnés ont été mis à jeun pendant la nuit précédant les prélèvements. Une première prise de sang a été effectuée chez chacun des chats dans un tube de 1 mL contenant de l'héparinate de lithium.

Par la suite, 4 chats ont été laissés à jeun et les 4 autres ont reçu leur repas habituel juste après la première prise de sang. Les prélèvements sanguins ont ensuite été répétés tout au long de la journée, suivant la même procédure, à un intervalle de 2 heures, de 8 heures le matin à 20 heures le soir, en maintenant les chats toujours dans le même ordre.

Après chaque série de prises de sang, les tubes ont été centrifugés. Le plasma a été immédiatement séparé et placé dans des tubes Eppendorf. Chaque tube Eppendorf a été placé dans un support stocké à 4°C jusqu'à ce qu'il soit acheminé au laboratoire, le lendemain. Au laboratoire, les tubes ont immédiatement été stockés à -20°C. Dans un délai de 5 jours, les aliquots ont tous été retirés du congélateur et laissés à température ambiante jusqu'à ce qu'ils soient décongelés. Ils ont ensuite été analysés.

Tous les spécimens ont été analysés entre 24 et 101 heures après la congélation et entre 28 et 115 minutes après la décongélation des spécimens.

### c. Analyse statistique

Les résultats obtenus ont été analysés selon un modèle général linéaire  $Y_{i,j,k,l} = \mu + \text{Chat}_i + \text{Période}_j + \text{Statut}_k + \text{Heure}_l + \text{Heure} * \text{Statut} + \varepsilon_{i,j}$  où  $Y_{i,j,k,l}$  est la valeur observée pour le chat  $i$  ( $i = 1$  à 8) pendant la période  $j$  ( $j=1$  ou 2) dont le statut est  $k$  ( $k=$  à jeun ou nourri), à l'heure de la journée  $l$  ( $l=8$  heures, 10 heures, 12 heures, 14 heures, 16 heures, 18 heures ou 20 heures).  $\varepsilon_{i,j}$  est l'erreur résiduelle du modèle. Lorsque l'heure de prélèvement avait un effet significatif sur une variable chez les chats à jeun, les résultats obtenus pour cette variable à chaque heure de prélèvement ont été comparés deux à deux avec un test de Tukey. Une valeur de  $p < 0.05$  a été considérée comme significative.

Lorsque l'interaction entre l'heure de prélèvement et le statut, à jeun ou nourri, des chats avait un effet significatif sur les variables biochimiques, les résultats obtenus pour ces variables chez les chats nourris et chez les chats à jeun ont été comparés heure par heure en effectuant des comparaisons multiples avec une comparaison a posteriori et une correction de Bonferroni. Une valeur de  $p < 0.0071$  (soit 0.05 divisé par le nombre de points, 7, mesurés au cours de la journée) a été considérée comme significative.

### 2.1.9. Etude 5 : Effet des cycles congélation/décongélation sur les résultats d'analyses biochimiques

#### a. Objectif

L'objectif était de rechercher l'impact de cycles de congélation/ décongélation successifs sur les variables plasmatiques de routine dans le plasma hépariné et le sérum chez le chat sain. Les spécimens de référence étaient constitués par les spécimens de plasma hépariné et de sérum n'ayant subi aucun cycle de congélation/décongélation. Ils ont été analysés immédiatement après le prélèvement.

#### b. Traitement des spécimens

Pour ces séances de prélèvement, 8 chats (A, C, D, F, G, H, J et P) ont été utilisés (Annexe 1).

4 tubes de 3 mL ont été collectés chez chaque chat : 2 tubes sans anticoagulant, et 2 tubes contenant de l'héparinate de lithium.

Tous les tubes ont été stockés à température ambiante (20°C) pendant 30 minutes pour la formation et la rétraction du caillot dans le tube sans anticoagulant, puis ils ont été centrifugés.

Le plasma hépariné et le sérum ont été répartis chacun dans 5 aliquots de 250 µL placés dans des tubes Eppendorf. Quatre des cinq aliquots ont immédiatement été congelés à -20°C.

Un aliquot de plasma hépariné et un de sérum pour chaque chat ont été analysés immédiatement (Jour 0) après la préparation du plasma et du sérum.

Un jour plus tard (Jour 1), tous les tubes ont été sortis du congélateur et laissés à température ambiante jusqu'à ce qu'ils soient décongelés. Un aliquot de plasma hépariné et un de sérum ont été analysés, tandis que les autres aliquots ont été recongelés à -20°C.

Le même procédé a été répété 2 jours, puis 3 jours, et 4 jours après la préparation des aliquots.

Après chaque cycle de congélation/décongélation, tous les aliquots ont été analysés entre 14 et 57 minutes après leur décongélation.

#### c. Analyse statistique

Les résultats ont d'abord été analysés grâce à un modèle général linéaire :  $Y_{i,j} = \mu + \text{Chat}_i + \text{Cycle}_j + \varepsilon_{i,j}$  où  $Y_{i,j}$  est la valeur observée pour le chat  $i$  ( $i = 1$  à 8) après  $j$  cycles ( $j = 0, 1, 2, 3$  ou 4) de congélation/décongélation entre -20°C et la température ambiante.  $\varepsilon_{i,j}$  est l'erreur résiduelle du modèle. Ce modèle a été appliqué séparément dans le plasma hépariné et dans le sérum.

Dans chaque type de spécimen, lorsque les cycles de congélation/décongélation avaient un effet significatif sur une variable, les résultats obtenus pour cette variable après plusieurs cycles ont été comparés deux à deux avec la valeur dans le spécimen de référence avec un test de Dunnett. Une valeur de  $p < 0.05$  a été considérée comme significative.

*2.1.10. Etude 6 : Effet d'une hémolyse d'importance variable sur les résultats d'analyses biochimiques – Etude pilote*

a. Objectif

L'objectif de cette étude pilote était de déterminer les concentrations d'hémoglobine libre qui ont permis de réaliser une analyse biochimique des spécimens et qui ont ensuite été utilisées lors de l'expérimentation suivante (voir 2.1.11).

b. Traitement des spécimens

Pour ces séances de prélèvement, un chat sain de 12 ans, extérieur à la colonie de recherche, a été utilisé.

Deux tubes de 3 mL contenant de l'héparinate de lithium ont été collectés.

Un des tubes a été immédiatement centrifugé. Le plasma a ensuite été immédiatement séparé en 5 aliquots contenant le volume suivant : 400  $\mu\text{L}$ , 360  $\mu\text{L}$ , 300  $\mu\text{L}$ , 200  $\mu\text{L}$ , ou 100  $\mu\text{L}$ . Ces 5 aliquots ont été réfrigérés à 4°C.

Le tube restant a été congelé à -20°C pendant 24 heures. Il a ensuite été retiré du congélateur et laissé à température ambiante jusqu'à ce qu'il soit décongelé. Il a alors été centrifugé. Un aliquot de 400  $\mu\text{L}$  de ce plasma totalement hémolysé a été mis de côté. Le reste du plasma hémolysé a été utilisé pour préparer des aliquots contenant une concentration d'hémoglobine libre croissante. Pour cela, les 5 aliquots de plasma préparés précédemment et réfrigérés ont été sortis du réfrigérateur et un volume prédéterminé de plasma totalement hémolysé a été ajouté à chacun (0, 40, 100, 200, et 300  $\mu\text{L}$ ). Des aliquots contenant un pourcentage croissant (0, 10, 25, 50, et 75 %) de plasma hémolysé ont ainsi été obtenus.

Dans chaque aliquot, la concentration d'hémoglobine libre plasmatique a été dosée immédiatement après la préparation des aliquots. De plus, dans l'aliquot contenant uniquement du plasma totalement hémolysé, une analyse biochimique a été réalisée. Si l'analyse biochimique avait été rendue impossible dans ce tube par la concentration d'hémoglobine libre dans le plasma, cette analyse biochimique aurait été effectuée sur le spécimen suivant (contenant 75 % de plasma hémolysé) et ainsi de suite.

### c. Analyse

Les résultats obtenus ont été analysés afin de déterminer à partir de quelle concentration d'hémoglobine libre l'analyse biochimique devient possible.

#### *2.1.11. Etude 6 : Effet d'une hémolyse d'importance variable sur les résultats d'analyses biochimiques*

##### a. Objectif

L'objectif était d'évaluer l'effet de la présence d'une hémolyse de degré variable sur les concentrations des analytes biochimiques de routine dans le plasma hépariné et le sérum chez le chat sain. Le spécimen de référence était le spécimen non hémolysé.

##### b. Traitement des spécimens

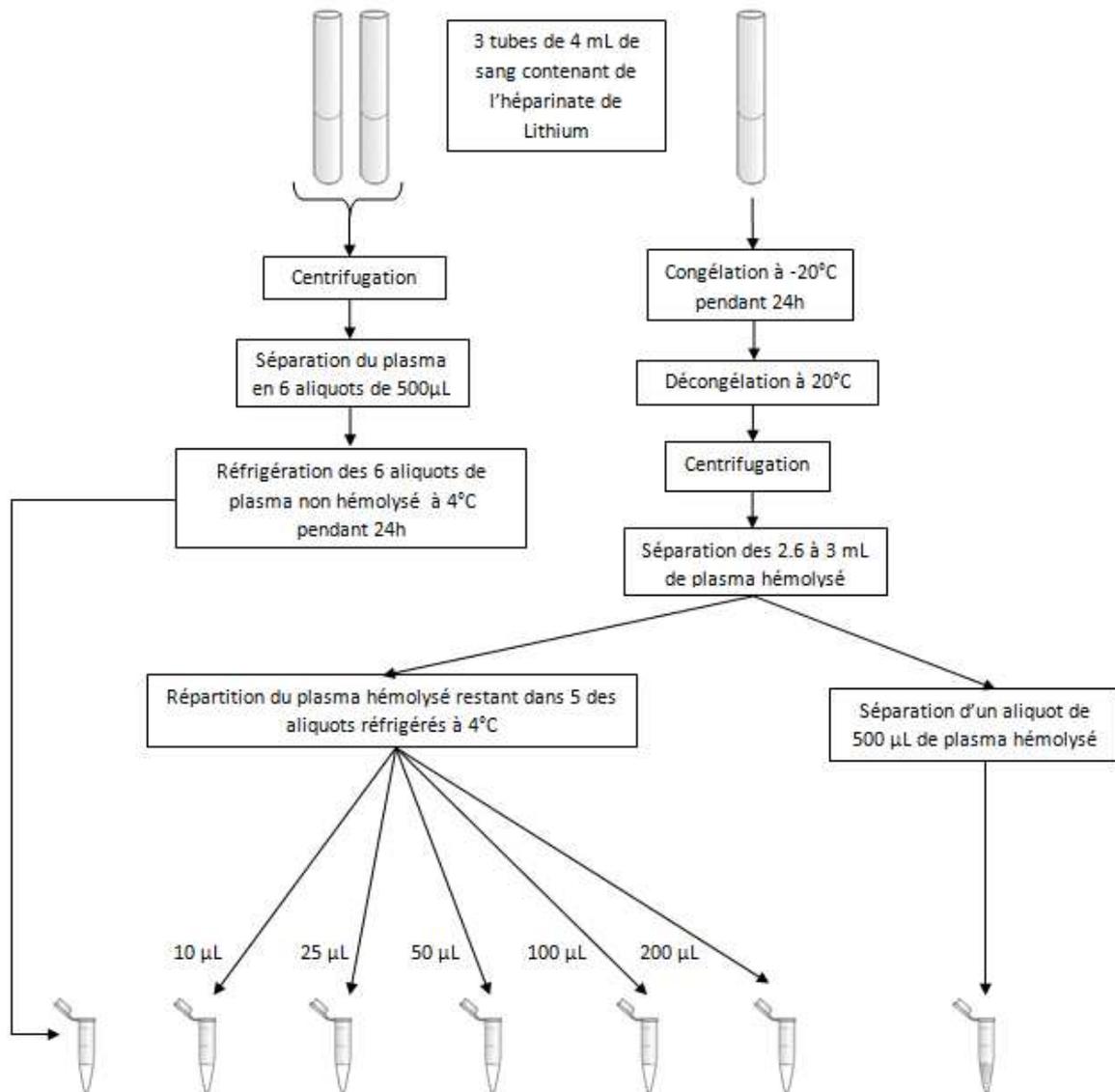
Pour ces séances de prélèvement, 6 chats (A, C, D, F, J et P) ont été utilisés (Annexe 1).

Douze millilitres de sang ont été collectés dans 3 tubes de 4 mL contenant de l'héparinate de lithium chez chaque chat.

Deux des tubes ont été centrifugés immédiatement. Le plasma a été collecté et séparé en 6 aliquots de 500 µL de plasma non hémolysé. Ces aliquots ont alors été réfrigérés à 4°C.

Le tube restant, pour chaque chat, a été aussitôt congelé à -20°C pour provoquer l'hémolyse du sang total. Vingt-quatre heures plus tard, tous les tubes congelés ont été retirés du congélateur et laissés à température ambiante jusqu'à ce qu'ils soient décongelés. Ils ont alors été centrifugés. Le plasma issu de chaque tube a été séparé immédiatement après la centrifugation. Pour chacun des chats, un aliquot de 500 µL de ce plasma totalement hémolysé a été mis de côté. Ce spécimen représente un plasma totalement hémolysé. Le reste du plasma hémolysé a été utilisé pour préparer des aliquots contenant une concentration d'hémoglobine libre croissante. Pour cela, les 6 aliquots de plasma préparés précédemment et réfrigérés ont été sortis du réfrigérateur et un volume prédéterminé de plasma hémolysé a été ajouté à chacun (0, 10, 25, 50, 100 ou 200 µL) (Figure 4). Des aliquots contenant un pourcentage croissant (0, 2, 5, 9, 16, et 29 %) de plasma hémolysé ont ainsi été obtenus.

Pour ces 6 aliquots, une analyse biochimique a été réalisée ainsi qu'un dosage de la concentration d'hémoglobine libre dans le plasma. Dans l'aliquot contenant uniquement du plasma totalement hémolysé, seule la concentration d'hémoglobine libre a été mesurée.



*Figure 4 : Traitement des spécimens pour l'étude 6*

La concentration plasmatique d'hémoglobine libre dans les différents aliquots, déterminée au cours de l'expérimentation pilote, a été utilisée pour déterminer la concentration théorique d'hémoglobine dans les différents aliquots. La préparation des spécimens ainsi que leur concentration théorique d'hémoglobine obtenue grâce aux résultats du pilote sont décrites dans le tableau 2.

*Tableau 2 : Préparation des spécimens de plasma hémolysé et concentrations théoriques d'hémoglobine*

Volume de plasma non hémolysé (µL)	Volume de plasma hémolysé (µL)	Pourcentage de plasma hémolysé (%)	Concentration d'Hb du plasma non hémolysé (g/dL)	Concentration d'Hb du plasma hémolysé (g/dL)	Concentration théorique en Hb dans le mélange (g/dL)	Concentration théorique en Hb dans le mélange (mmol/L)
500	0	0,0	0.1	9	0.1	0.06
500	10	2.0	0.1	9	0.3	0.17
500	25	4.8	0.1	9	0.5	0.33
500	50	9.1	0.1	9	0.9	0.57
500	100	16.7	0.1	9	1.6	0.99
500	200	28.6	0.1	9	2.6	1.64

Tous les aliquots de plasma ont été analysés entre 33 et 129 minutes après la fin de leur préparation.

### c. Analyse statistique

L'effet de l'hémolyse sur les résultats d'analyses a d'abord été évalué grâce au modèle général linéaire suivant :  $Y_{i,j} = \mu + \text{Chat}_i + \text{Hémolyse}_j + \epsilon_{i,j}$  où  $Y_{i,j}$  est la valeur observée pour le chat  $i$  ( $i = 1$  à  $8$ ) dans un spécimen avec  $j$  % de plasma hémolysé ( $j = 0, 2, 5, 9, 16, \text{ ou } 29$  %).  $\epsilon_{i,j}$  est l'erreur résiduelle du modèle.

Lorsque l'hémolyse avait un effet significatif sur une variable, les résultats obtenus pour cette variable dans les aliquots contenant un pourcentage variable de plasma hémolysé ont été comparés deux à deux avec la valeur obtenue dans le spécimen de référence grâce à un test de Tuckey. Une valeur de  $p < 0.05$  a été considérée comme significative.

## 2.2. Résultats

Toutes les prises de sang prévues ont pu être effectuées.

### 2.2.1. Etude 1 : Effet de l'anticoagulant

Dans cette manipulation, toutes les variables biochimiques ont été influencées ( $p < 0.001$ ) par le choix de l'anticoagulant. Pour chacune des variables, les concentrations obtenues dans le sérum, le plasma EDTA, et le plasma citraté ont été comparées à celles obtenues dans le plasma hépariné qui est le spécimen de référence de cette expérimentation.

Les concentrations de calcium et de potassium dans le plasma EDTA n'ont pas pu être analysées en raison de l'interaction de l'anticoagulant avec ces cations. Tous les autres dosages ont pu être réalisés.

*Comparaison sérum et plasma hépariné:*

Les résultats dans le sérum et le plasma hépariné étaient statistiquement différents pour 4 des 13 variables analysées: les concentrations de potassium ( $p<0.001$ ), de phosphate ( $p=0.001$ ), d'albumine ( $p=0.011$ ) et d'activité de l'ALAT ( $p<0.001$ ) étaient significativement plus élevées dans le sérum. Les concentrations sériques ainsi que les concentrations dans le plasma hépariné sont détaillées dans le tableau 3.

*Tableau 3 : Concentrations (moyenne $\pm$ SD) des différents analytes dans le plasma hépariné et dans le sérum*

Analyte	Spécimen	
	Héparine	Sérum
Glucose (mmol/L)	4.8 $\pm$ 0.8	4.7 $\pm$ 0.9
Urée (mmol/L)	7.1 $\pm$ 0.3	7.1 $\pm$ 0.4
Créatinine ( $\mu$ mol/L)	116 $\pm$ 13	116 $\pm$ 14
Sodium (mmol/L)	157 $\pm$ 2	157 $\pm$ 2
Potassium (mmol/L)	3.5 $\pm$ 0.2	3.8 $\pm$ 0.2
Chlore (mmol/L)	126 $\pm$ 1	126 $\pm$ 0.8
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	16 $\pm$ 2	16 $\pm$ 2
Calcium (mmol/L)	2.45 $\pm$ 0.06	2.46 $\pm$ 0.07
Phosphate (mmol/L)	1.24 $\pm$ 0.09	1.28 $\pm$ 0.10
Protéines (g/L)	67 $\pm$ 4	67 $\pm$ 4
Albumine (g/L)	32.4 $\pm$ 2.6	32.9 $\pm$ 2.8
ALAT (U/L)	46 $\pm$ 14	54 $\pm$ 13
PAL (U/L)	27 $\pm$ 8	28 $\pm$ 9

Les valeurs surlignées sont celles présentant une différence significative avec la valeur de référence obtenues dans le plasma hépariné

Pour comparer l'effet de ces anticoagulants, la différence des concentrations des variables dans le sérum et dans le plasma hépariné a été calculée pour les analytes significativement influencés par l'utilisation de sérum. La concentration d'un analyte dans le sérum a été considérée comme analytiquement différente de celle dans le plasma hépariné si la médiane des différences entre ces deux concentrations était supérieure à la variabilité analytique (c'est à dire  $2.77 \times CV_{\text{répétabilité}} \times \text{valeur moyenne dans le spécimen de référence}$ ) (Jones, 2006) (Tableau 4).

*Tableau 4 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le sérum et le plasma hépariné pour les variables influencées par l'utilisation de sérum*

Analyte (unité)	Médiane des différences (min ; max)	IR	Pourcentage de variation de la valeur moyenne par rapport à la valeur moyenne de référence (%)	Variabilité analytique
Potassium (mmol/L)	0.4 (0.1 ; 0.7)	<b>3.3-4.2</b>	11.1	0.03
Phosphate (mmol/L)	0.05 (0.00 ; 0.09)	<b>1.1-2.1</b>	3.8	0.01
Albumine (g/L)	0.4 (-0.1 ; 1.2)	<b>27-39</b>	1.6	0.90
ALAT (U/L)	8 (3 ; 12)	<b>34-123</b>	17.9	1.60

Les lignes surlignées sont celles pour lesquelles la médiane des différences est supérieure à la variabilité analytique  
 IR= intervalle de référence

Pour l'albumine, la médiane des différences est inférieure à la variabilité analytique. La différence de concentration n'est donc pas analytiquement significative et n'a aucune importance clinique. En revanche, pour le potassium, le phosphate et l'ALAT, la médiane des différences est supérieure à la variabilité analytique donc leurs concentrations dans le sérum et le plasma hépariné sont analytiquement différentes. Les concentrations de potassium, de phosphate et d'ALAT ont augmenté respectivement de 11.1 %, 3.75 % et 18.0 % dans le sérum par rapport au plasma hépariné (Tableau 4).

*Comparaison plasma EDTA-K3 et plasma hépariné:*

Dans le cas du plasma EDTA, les concentrations de 8 des 11 variables analysées ont été statistiquement différents du plasma hépariné. Les concentrations de glucose ( $p=0.047$ ), de créatinine ( $p<0.001$ ), de sodium ( $p<0.001$ ), de  $CO_2$  ( $p=0.027$ ), de protéines totales ( $p=0.004$ ) et d'activité de la PAL ( $p<0.001$ ) ont été significativement plus basses dans le plasma EDTA que dans le plasma hépariné. A l'inverse, les concentrations d'albumine ( $p<0.001$ ), et d'activité de l'ALAT ( $p<0.001$ ) ont été significativement plus élevées. Leurs concentrations sont décrites dans le tableau 5.

*Tableau 5 : Concentrations (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné et dans le plasma EDTA*

Analyte	Spécimen	
	Héparine	EDTA-K3
Glucose (mmol/L)	4.8±0.8	4.6±0.6
Urée (mmol/L)	7.1±0.3	7.1±0.3
Créatinine (µmol/L)	116±13	111±13
Sodium (mmol/L)	157±2	154±1
Potassium (mmol/L)	3.5±0.2	
Chlore (mmol/L)	126±1	124±1
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	16±2	15±2
Calcium (mmol/L)	2.45±0.06	
Phosphate (mmol/L)	1.24±0.09	1.21±0.09
Protéines (g/L)	67±4	65±3
Albumine (g/L)	32.4±2.6	34.9±2.9
ALAT (U/L)	46±14	54±13
PAL (U/L)	27±8	11±1*

\*3 chats avaient une concentration <10 U/L dans le plasma EDTA. Une valeur de 10 U/L a été arbitrairement attribuée à ces chats  
Les valeurs surlignées sont celles présentant une différence significative avec la valeur de référence obtenues dans le plasma hépariné

Pour comparer l'effet de ces anticoagulants, la différence des concentrations des variables dans le plasma EDTA et dans le plasma hépariné a été calculée pour les analytes significativement influencés par l'utilisation d'EDTA (Tableau 6).

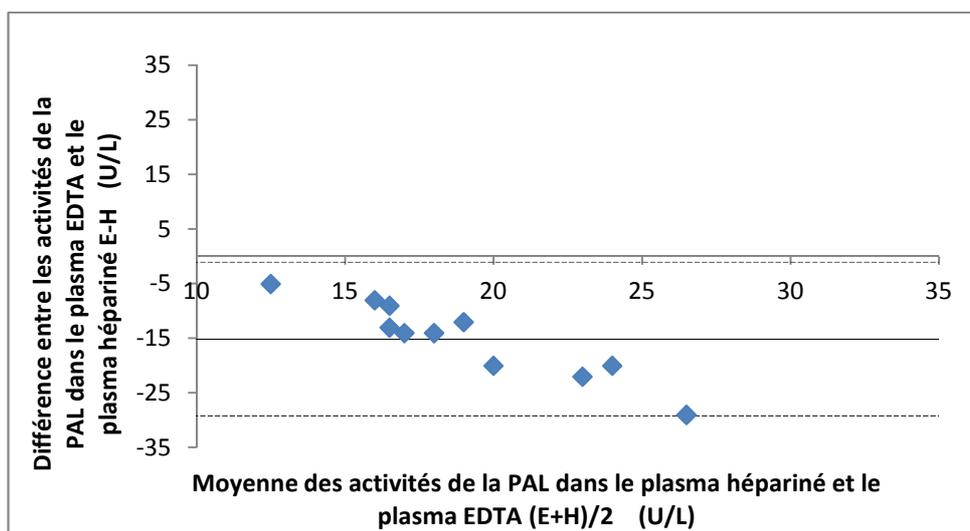
*Tableau 6 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le plasma EDTA et le plasma hépariné pour les variables influencées par l'utilisation d'EDTA-K<sub>3</sub>*

Analyte (unité)	Médiane des différences (min ; max)	IR	Pourcentage de variation de la valeur moyenne par rapport à la valeur moyenne de référence (%)	Variabilité analytique
Glucose (mmol/L)	-0.1 (-0.5 ; -0.0)	<b>4.1-8.2</b>	-3.2	0.03
Créatinine (µmol/L)	-4 (-7 ; -3)	<b>89-207</b>	-3.8	3.20
Sodium (mmol/L)	-3 (-6 ; -1)	<b>153-161</b>	-1.9	1.52
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	-1 (-2 ; 0)	<b>15-21</b>	-6.6	0.69
Protéines (g/L)	-2 (-7 ; -1)	<b>65-85</b>	-3.1	0.56
Albumine (g/L)	2.4 (1.8 ; 4.0)	<b>27-39</b>	7.8	0.85
ALAT (U/L)	8 (4 ; 10)	<b>34-123</b>	17.5	1.59
PAL (U/L)	-14 (-29 ; -5)	<b>32-147</b>	-56.9	1.16

Les lignes surlignées sont celles pour lesquelles la médiane des différences est supérieure à la variabilité analytique  
IR= intervalle de référence

Les médianes des différences ont toutes été supérieures à la variabilité analytique. Les concentrations des analytes dans le plasma EDTA sont analytiquement différentes de celles obtenues dans le plasma hépariné. Les pourcentages de variation de la concentration moyenne des différents analytes dans le plasma EDTA par rapport au plasma hépariné sont inscrits dans le tableau 6.

La PAL est l'analyte dont la différence de concentration entre le plasma EDTA et le plasma hépariné est la plus importante. La figure 5 représente cette différence.



*Figure 5 : Graphique de Bland-Altman représentant la différence entre les activités de la PAL dans le plasma EDTA (E) et dans le plasma hépariné (H)*

#### *Comparaison plasma citraté et plasma hépariné :*

Tous les résultats obtenus dans le plasma citraté ont été statistiquement différents de ceux obtenus dans le plasma hépariné.

Les concentrations de sodium ( $p < 0.001$ ), d'albumine ( $p < 0.001$ ) et d'activité de l'ALAT ( $p < 0.001$ ), ont été supérieures lors de l'utilisation de plasma citraté au lieu du plasma hépariné. En revanche, les concentrations de glucose ( $p < 0.001$ ), d'urée ( $p < 0.001$ ), de créatinine ( $p < 0.001$ ), de potassium ( $p < 0.001$ ), de chlore ( $p < 0.001$ ), de  $\text{CO}_2$  ( $p < 0.001$ ), de calcium ( $p < 0.001$ ), de phosphate ( $p < 0.001$ ), de protéines totales ( $p < 0.001$ ) et l'activité de la PAL ( $p = 0.003$ ) obtenues dans le plasma citraté ont été inférieures à celles obtenues dans le plasma hépariné.

Les concentrations des variables dans le plasma hépariné et dans le plasma citraté sont détaillées dans le tableau 7.

*Tableau 7 : Concentrations (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné et dans le plasma citraté*

Analyte	Spécimen	
	Héparine	Citrate
Glucose (mmol/L)	4.8±0.8	4.0±0.6
Urée (mmol/L)	7.1±0.3	5.7±0.3
Créatinine (µmol/L)	116±13	95±12
Sodium (mmol/L)	157±2	177±3
Potassium (mmol/L)	3.5±0.2	2.6±0.2
Chlore (mmol/L)	126±1	101±3
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	16±2	12±2
Calcium (mmol/L)	2.45±0.06	1.13±0.10
Phosphate (mmol/L)	1.24±0.09	1.01±0.08
Protéines (g/L)	67±4	57±8
Albumine (g/L)	32.4±2.6	34.1±2.6
ALAT (U/L)	46±14	50±12
PAL (U/L)	27±8	20±5

Les valeurs surlignées sont celles présentant une différence significative avec la valeur de référence obtenue dans le plasma hépariné

Pour étudier l'effet de l'utilisation de citrate de sodium en tant qu'anticoagulant, la différence des concentrations des variables dans le plasma citraté et dans le plasma hépariné a été calculée pour les analytes significativement influencés par l'utilisation de citrate de sodium (Tableau 8).

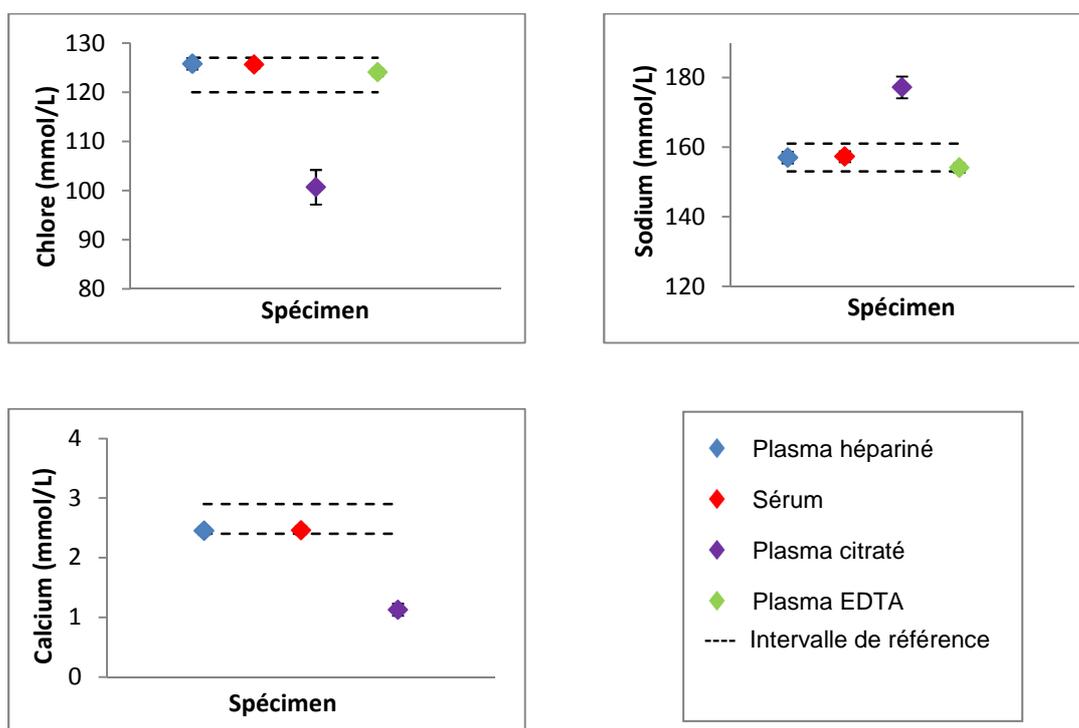
*Tableau 8 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le plasma citraté et le plasma hépariné pour les variables influencées par l'utilisation de citrate de sodium*

Analyte (unité)	Médiane des différences (min ; max)	IR	Pourcentage de variation de la valeur moyenne par rapport à la valeur moyenne de référence (%)	Variabilité analytique
Glucose (mmol/L)	-0.7 (-1.1 ; -0.5)	<b>4.1-8.2</b>	-16.0	0.03
Urée (mmol/L)	-1.4 (-1.8 ; -1.2)	<b>6.6-11.3</b>	-19.6	0.20
Créatinine (µmol/L)	-21 (-27 ; -15)	<b>89-207</b>	-18.0	3.20
Sodium (mmol/L)	20 (18 ; 23)	<b>153-161</b>	12.8	1.52
Potassium (mmol/L)	-0.8 (-1.0 ; -0.7)	<b>3.3-4.2</b>	-23.9	0.07
Chlore (mmol/L)	-25 (-32 ; -21)	<b>120-127</b>	-20.0	2.09
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	-4 (-8 ; 2)	<b>15-21</b>	-24.3	0.69
Calcium (mmol/L)	-1.31 (-1.54 ; -1.2)	<b>2.4-2.9</b>	-54.0	0.04
Phosphate (mmol/L)	-0.23 (-0.29 ; -0.17)	<b>1.1-2.1</b>	-18.2	0.01
Protéines (g/L)	-9.3 (-14.5 ; -8.1)	<b>65-85</b>	-19.3	0.56
Albumine (g/L)	1.7 (1.1 ; 2.6)	<b>27-39</b>	5.3	0.85
ALAT (U/L)	4 (0 ; 9)	<b>34-123</b>	8.7	1.59
PAL (U/L)	-6 (-11 ; -2)	<b>32-147</b>	-23.3	1.16

Les lignes surlignées sont celles pour lesquelles la médiane des différences est supérieure à la variabilité analytique  
IR= intervalle de référence

Les médianes des différences ont toutes été supérieures à la variabilité analytique. Les concentrations des analytes dans le plasma citraté sont donc différentes de celles mesurées dans le plasma hépariné. Les pourcentages de variation de la concentration moyenne des différents analytes dans le plasma EDTA par rapport au plasma hépariné sont inscrits dans le tableau 8.

Un biais se définit comme une erreur entre l'estimation d'une variable et la véritable valeur de cette variable. Ici, un biais très important a été observé pour les concentrations de chlore, sodium, et de calcium lors de l'utilisation de citrate de sodium comme anticoagulant (Figure 6).



*Figure 6 : Concentrations de sodium, chlore et calcium dans les différents spécimens (moyenne ± SD)*

Les différences entre les concentrations de potassium et de CO<sub>2</sub> dans le plasma citraté et le plasma hépariné sont représentées dans les figures 7 et 8.

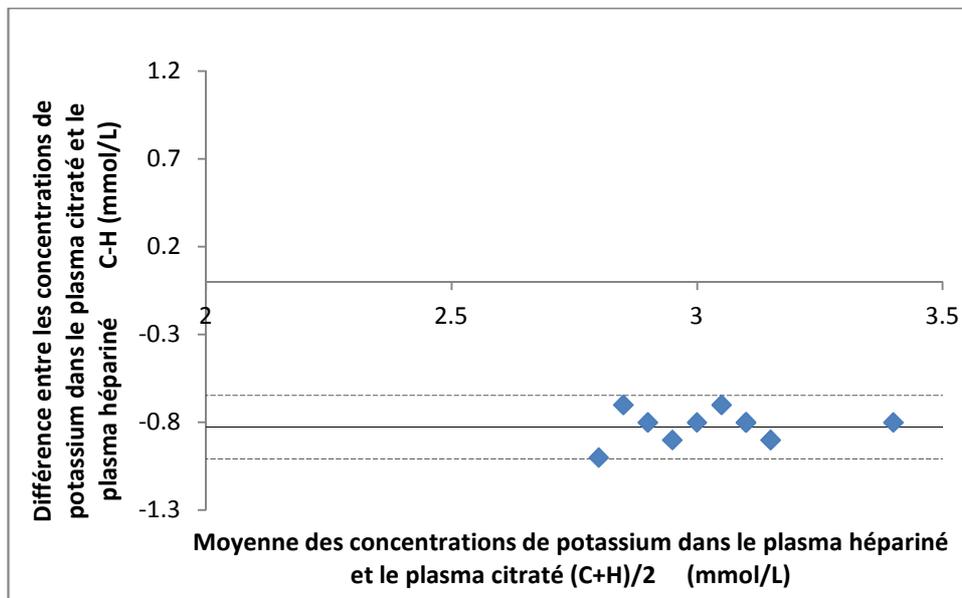


Figure 7 : Graphique de Bland-Altman représentant la différence entre les concentrations de potassium dans le plasma citraté et dans le plasma hépariné

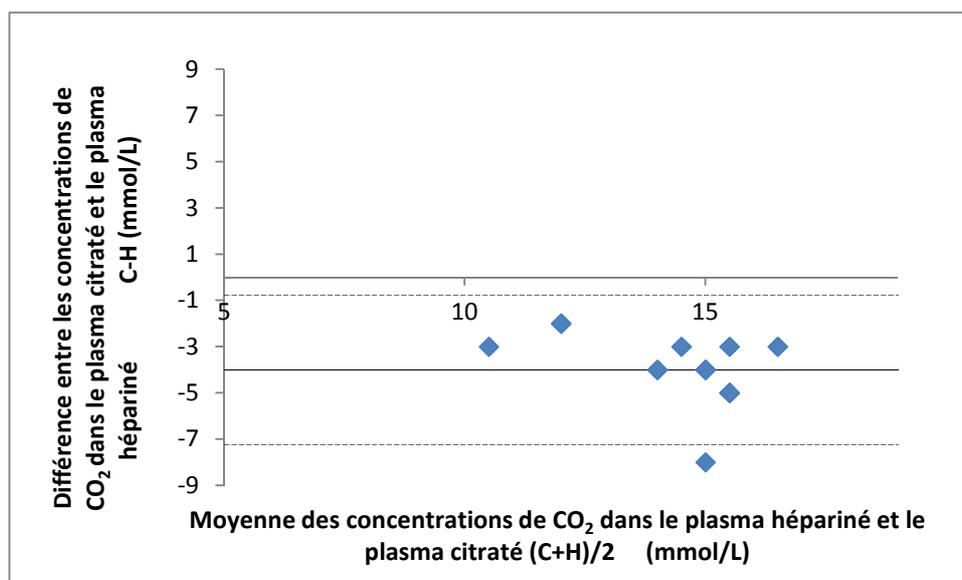


Figure 8 : Graphique de Bland-Altman représentant la différence entre les concentrations de CO<sub>2</sub> dans le plasma citraté et dans le plasma hépariné

Le remplacement du plasma hépariné par du sérum ne modifie que les concentrations de potassium, de phosphate, et d'ALAT.

L'utilisation d'EDTA-K<sub>3</sub>, en revanche, modifie les concentrations de glucose, créatinine, sodium, CO<sub>2</sub>, albumine, protéines, ALAT, et PAL. Les concentrations de calcium et de potassium n'ont pas pu être dosées.

Enfin, l'emploi de citrate de sodium modifie les concentrations des 13 variables biochimiques.

### 2.2.2. Etude 2 : Stabilité à long terme des analytes biochimiques dans le plasma congelé à -20°C

Au cours de l'analyse des spécimens, des difficultés techniques dues à une erreur de l'analyseur ont mené à l'élimination de nombreux aliquots dosés 6 mois après leur préparation. Après 1 mois, 3 mois, 6 mois, et 12 mois de stockage à -20°C, respectivement 11 dosages, 11 dosages, 7 dosages et 10 dosages ont pu être effectués dans le plasma hépariné. Et 11 dosages, 10 dosages, 3 dosages et 9 dosages ont été respectivement réalisés dans le sérum après 1 mois, 3 mois, 6 mois et 12 mois de stockage du sérum à -20°C. Les valeurs obtenues après 6 mois de stockage à -20°C sont donc peu significatives car le nombre d'analyses effectuées est faible. Ceci doit être considéré lors de l'analyse des résultats.

Onze des treize variables étudiées ont été influencées par la durée du stockage du sérum à -20°C : le glucose ( $p < 0.001$ ), l'urée ( $p < 0.001$ ), la créatinine ( $p = 0.0015$ ), le sodium ( $p = 0.018$ ), le  $\text{CO}_2$  ( $p < 0.001$ ), le calcium ( $p = 0.018$ ), le phosphate ( $p < 0.001$ ), les protéines totales ( $p < 0.001$ ), l'albumine ( $p < 0.001$ ), l'ALAT ( $p < 0.001$ ) et la PAL ( $p = 0.0029$ ). Pour chacune, les concentrations à chaque temps ont ensuite été comparées par rapport à la valeur mesurée lors de l'analyse immédiate du sérum, qui sert de valeur de référence. Les concentrations sériques des analytes en fonction de la durée de congélation sont récapitulées dans le tableau 9.

*Tableau 9 : Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le sérum en fonction de la durée de congélation*

Analyte	Analyse immédiate	Durée de congélation du spécimen			
		1 mois	3 mois	6 mois	12 mois
Glucose (mmol/L)	4.7±0.9	4.8±0.9	4.5±0.6	4.1±0.1	4.3±0.1
Urée (mmol/L)	7.1±0,4	7.1±0.3	7.4±0.3	7.2±0.2	7.0±0.3
Créatinine (µmol/L)	116±14	117±14	116±15	119±11	117±13
Sodium (mmol/L)	157±2	154±2	154±4	155±3	156±2
Potassium (mmol/L)	3.8±0.2	3.8±0.2	3.8±0.2	4.0±0.1	3.9±0.2
Chlore (mmol/L)	126±1	127±1	126±1	126±2	127±2
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	16±2	15±2	14±2	14±1	12±1
Calcium (mmol/L)	2.46±0.07	2.50±0.07	2.46±0.06	2.46±0.06	2.42±0.03
Phosphate (mmol/L)	1.28±0.10	1.25±0.10	1.29±0.10	1.24±0.07	1.31±0.09
Protéines (g/L)	67±4	69±4	68±3	66±3	67±3
Albumine (g/L)	32.9±2.8	32.8±2.6	32.5±1.7	31.7±1.6	31.1±1.1
ALAT (U/L)	54±13	55±12	50±10	46±10	28±7
PAL (U/L)	28±9	27±8	27±8	21±8	25±7

Les valeurs surlignées sont celles présentant une différence significative avec la valeur de référence obtenue lors de l'analyse immédiate du sérum

Pour étudier l'effet de la durée de congélation, la différence des concentrations des variables dans le sérum après 1 mois, 3 mois, 6 mois ou 12 mois de congélation et lors de l'analyse immédiate a été calculée pour les analytes significativement influencés par la durée de congélation du sérum (Tableau 10).

*Tableau 10 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le sérum après 1, 3, 6 ou 12 mois de stockage à -20°C et lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par la durée de congélation du sérum*

	Différence médiane (min ; max)				IR	Pourcentage de variation de la valeur moyenne par rapport à la valeur de référence (%)				Variabilité analytique
	1 mois	3 mois	6 mois	12 mois		1 mois	3 mois	6 mois	12 mois	
<b>Glucose (mmol/L)</b>	0.1 (0.0 ; 0.2)	0.1 (0.0 ; 0.2)	-0.1 (-0.3 ; 0.0)	0.0 (-0.1 ; 0.2)	<b>4.1-8.2</b>	2.1	-2.6	-11.8	-7.2	0.03
<b>Urée (mmol/L)</b>	0.1 (-0.1 ; 0.3)	0.3 (0.1 ; 0.4)	0.2 (0.2 ; 0.3)	-0.1 (-0.3 ; 0.4)	<b>6.6-11.3</b>	1.3	4.3	2.5	-0.3	0.20
<b>Créatinine (µmol/L)</b>	1 (-1 ; 3)	2 (-0 ; 4)	4 (-2 ; 7)	4 (-1 ; 6)	<b>89-207</b>	1.1	0.5	2.6	1.0	3.20
<b>Chlore (mmol/L)</b>	1 (0 ; 2)	0 (-2 ; 3)	1 (-2 ; 1)	2 (-3 ; 3)	<b>120-127</b>	0.7	0.1	0.3	0.9	2.09
<b>CO2 (mmol/L)</b>	-2 (-3 ; 0)	-2 (-3 ; -2)	-3 (-4 ; -3)	-6 (-7 ; -4)	<b>15-21</b>	-9.5	-11.5	-17.0	-29.0	0.69
<b>Calcium (mmol/L)</b>	0.04 (-0.04 ; 0.1)	0 (-0.07 ; 0.12)	0.01 (-0.05 ; 0.03)	0 (-0.1 ; 0.03)	<b>2.4-2.9</b>	1.6	-0.1	0.0	-1.8	0.04
<b>Phosphate (mmol/L)</b>	-0.03 (-0.05 ; -0.02)	0.01 (-0.05 ; 0.04)	0.03 (0 ; 0.04)	0.04 (0 ; 0.07)	<b>1.1-2.1</b>	-2.3	0.6	-3.6	2.5	0.01
<b>Protéines (g/L)</b>	2 (-1 ; 3)	2 (-0 ; 6)	1 (-0 ; 2)	2 (-1 ; 3)	<b>65-85</b>	2.4	2.0	-1.1	0.0	0.56
<b>Albumine (g/L)</b>	-0.2 (-0.9 ; 0.7)	0.4 (-0.5 ; 1.6)	-0.2 (-1 ; 0.7)	-0.5 (-3 ; 0.1)	<b>27-39</b>	-0.3	-1.0	-3.6	-5.5	0.85
<b>ALAT (U/L)</b>	1 (-6 ; 7)	-1 (-12 ; 2)	-11 (-17 ; -3)	-20 (-37 ; -17)	<b>34-123</b>	0.7	-7.8	-15.5	-49.2	1.59
<b>PAL (U/L)</b>	-1 (-8 ; 0)	-1 (-7 ; 1)	-2 (-2 ; -1)	-2 (-6 ; -1)	<b>32-147</b>	-5.5	-5.2	-24.8	-13.2	1.16

Les valeurs surlignées sont celles pour lesquelles la médiane des différences est supérieure à la variabilité analytique  
IR= intervalle de référence

Dans le sérum, le chlore, le calcium et l'albumine n'ont montré aucune variation analytiquement significative après 1, 3, 6, ou 12 mois de stockage à -20°C. Ces analytes ne présentent donc aucune variation cliniquement pertinente.

La différence entre les concentrations de créatinine, d'activité de l'ALAT et de la PAL après 1, 3, 6 ou 12 mois de stockage et la valeur de référence n'est apparue comme analytiquement significative qu'à partir de 6 mois de stockage.

La concentration d'urée a présenté une variation analytiquement significative à partir de 3 mois de stockage du sérum à -20°C.

Enfin, le glucose, le CO<sub>2</sub>, le phosphate et les protéines ont présenté des variations analytiquement significative par rapport à la valeur de référence dès 1 mois de stockage du sérum à -20°C.

Les pourcentages de variation de la concentration moyenne des différents analytes dans le sérum en fonction de la durée de congélation sont décrits dans le tableau 10.

Dans le plasma hépariné, le glucose (p<0.001), l'urée (p<0.001), la créatinine (p<0.001), le sodium (p<0.001), le potassium (p<0.001), le chlore (p=0.0017), le CO<sub>2</sub> (p<0.001), le

calcium ( $p<0.001$ ), le phosphate ( $p<0.001$ ), les protéines totales ( $p=0.019$ ), l'albumine ( $p<0.001$ ), l'ALAT ( $p<0.001$ ) et la PAL ( $p<0.001$ ) ont tous été influencés de manière statistiquement significative par la durée du stockage à  $-20^{\circ}\text{C}$ . Les valeurs après 1 mois, 3 mois, 6 mois et 12 mois de stockage à  $-20^{\circ}\text{C}$  ont donc ensuite été comparées deux à deux avec la valeur de référence, lors de l'analyse immédiate du plasma hépariné. Les concentrations plasmatiques des analytes en fonction de la durée de congélation sont récapitulées dans le tableau 11.

*Tableau 11 : Concentration (moyenne $\pm$ SD) des différents analytes dans le plasma hépariné en fonction de la durée de congélation*

Analyte	Durée de congélation du spécimen				
	Analyse immédiate	1 mois	3 mois	6 mois	12 mois
Glucose (mmol/L)	4.8 $\pm$ 0.8	4.8 $\pm$ 0.8	4.7 $\pm$ 0.7	4.3 $\pm$ 0.1	4.5 $\pm$ 0.4
Urée (mmol/L)	7.1 $\pm$ 0.3	7.1 $\pm$ 0.3	7.2 $\pm$ 0.3	7.3 $\pm$ 0.2	7.0 $\pm$ 0.3
Créatinine ( $\mu\text{mol/L}$ )	116 $\pm$ 13	116 $\pm$ 13	114 $\pm$ 14	114 $\pm$ 16	115 $\pm$ 14
Sodium (mmol/L)	157 $\pm$ 2	154 $\pm$ 1	151 $\pm$ 2	156 $\pm$ 1	154 $\pm$ 3
Potassium (mmol/L)	3.5 $\pm$ 0.2	3.4 $\pm$ 0.2	3.4 $\pm$ 0.2	3.5 $\pm$ 0.2	3.4 $\pm$ 0.1
Chlore (mmol/L)	126 $\pm$ 1	127 $\pm$ 1	125 $\pm$ 1	127 $\pm$ 1	125 $\pm$ 3
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	16 $\pm$ 2	15 $\pm$ 2	14 $\pm$ 2	14 $\pm$ 2	12 $\pm$ 2
Calcium (mmol/L)	2.45 $\pm$ 0.06	2.47 $\pm$ 0.04	2.36 $\pm$ 0.04	2.45 $\pm$ 0.04	2.33 $\pm$ 0.10
Phosphate (mmol/L)	1.24 $\pm$ 0.09	1.20 $\pm$ 0.09	1.21 $\pm$ 0.09	1.27 $\pm$ 0.10	1.23 $\pm$ 0.11
Protéines (g/L)	67 $\pm$ 4	67 $\pm$ 5	68 $\pm$ 4	66 $\pm$ 2	65 $\pm$ 3
Albumine (g/L)	32.4 $\pm$ 2.6	32.0 $\pm$ 2.3	31.5 $\pm$ 2.3	31.6 $\pm$ 1.3	29.6 $\pm$ 1.9
ALAT (U/L)	46 $\pm$ 14	46 $\pm$ 12	41 $\pm$ 10	42 $\pm$ 8	21 $\pm$ 7
PAL (U/L)	27 $\pm$ 8	25 $\pm$ 8	24 $\pm$ 8	24 $\pm$ 9	23 $\pm$ 6

Les valeurs surlignées sont celles présentant une différence significative avec la valeur de référence obtenue lors de l'analyse immédiate du plasma hépariné

Pour étudier l'effet de la durée de congélation, la différence des concentrations des variables dans le plasma hépariné après 1 mois, 3 mois, 6 mois ou 12 mois de congélation et lors de l'analyse immédiate a été calculée pour les analytes significativement influencés par la durée de congélation du plasma (Tableau 12).

*Tableau 12 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le plasma hépariné après 1, 3, 6 ou 12 mois de stockage à -20°C et lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par la durée de congélation du plasma hépariné*

	Différence médiane (min ; max)				IR	Pourcentage de variation de la valeur moyenne par rapport à la valeur de référence (%)				Variabilité analytique
	1 mois	3 mois	6 mois	12 mois		1 mois	3 mois	6 mois	12 mois	
<b>Glucose (mmol/L)</b>	0.1 (-0.16 ; 0.2)	-0.0 (-0.2 ; 0.1)	-0.1 (-0.3 ; 0.1)	-0.0 (-0.3 ; 0.1)	<b>4.1-8.2</b>	1.8	-1.0	-9.5	-5.3	0.03
<b>Urée (mmol/L)</b>	-0.1 (-0.2 ; 0.4)	0.2 (0 ; 0.4)	0.1 (0;0.3)	-0.2 (-0.3 ; 0.3)	<b>6.6-11.3</b>	0.3	2.3	3.3	-1.0	0.20
<b>Créatinine (µmol/L)</b>	1 (-18 ; 2)	-2 (-3 ; 1)	2 (1 ; 7)	1 (-6 ; 3)	<b>89-207</b>	0.3	-1.5	-1.9	-0.7	3.20
<b>Sodium (mmol/L)</b>	-2 (-7 ; -1)	-6 (-8 ; -4)	0 (-3 ; 2)	-2 (-12 ; 1)	<b>153-161</b>	-1.9	-3.8	0.4	-2.0	1.52
<b>Potassium (mmol/L)</b>	0 (-0.1 ; 0.1)	-0.01 (-0.2 ; 0)	0.05 (0 ; 0.1)	-0.05 (-0.1 ; 0.1)	<b>3.3-4.2</b>	-0.3	-2.1	1.8	-2.2	0.07
<b>Chlore (mmol/L)</b>	1 (0 ; 1)	-1 (-3 ; 0)	1 (0 ; 2)	0.5 (-5 ; 2)	<b>120-127</b>	0.6	-0.9	0.7	-0.6	2.09
<b>CO<sub>2</sub> (mmol/L)</b>	-1 (-3 ; 0)	-2 (-3 ; -2)	-3 (-5 ; -2)	-5 (-7 ; -4)	<b>15-21</b>	-7.2	-14.4	-14.9	-28.3	0.69
<b>Calcium (mmol/L)</b>	0.03 (-0.1 ; 0.07)	-0.09 (-0.17 ; -0.04)	0.02 (-0.03 ; 0.04)	-0.10 (-0.27 ; 0)	<b>2.4-2.9</b>	0.5	-3.9	-0.0	-5.2	0.04
<b>Phosphate (mmol/L)</b>	-0.03 (-0.05 ; -0.02)	-0.03 (-0.05 ; 0)	0.03 (0.01 ; 0.04)	0.01 (-0.06 ; 0.04)	<b>1.1-2.1</b>	-2.6	-2.3	2.5	-0.3	0.01
<b>Protéines (g/L)</b>	-0 (-2 ; 3)	0 (-2 ; 4)	0 (-3 ; 1)	-1 (-8 ; 1)	<b>65-85</b>	-0.2	0.9	-2.4	-3.3	0.56
<b>Albumine (g/L)</b>	-0.4 (-0.9 ; 0.6)	-0.8 (-2.2 ; 0)	0 (-1.3 ; 0.7)	-2.3 (-5.4 ; -0.6)	<b>27-39</b>	-1.0	-2.8	-2.3	-8.5	0.85
<b>ALAT (U/L)</b>	1 (-8 ; 6)	-4 (-14 ; 3)	-8 (-14 ; 2)	-23 (-34 ; -12)	<b>34-123</b>	0.4	-12.2	-9.1	-54.1	1.59
<b>PAL (U/L)</b>	-1 (-5 ; 0)	-2 (-6 ; -1)	-2 (-2 ; -1)	-3 (-8 ; -1)	<b>32-147</b>	-4.8	-8.2	-8.3	-13.4	1.16

Les valeurs surlignées sont celles pour lesquelles la médiane des différences est supérieure à la variabilité analytique  
IR= intervalle de référence

Dans le plasma hépariné, seuls la créatinine, le potassium et le chlore n'ont montré que des variations non analytiquement significatives après 1, 3, 6, ou 12 mois de stockage à -20°C. Ces analytes ne présentent donc aucune variation d'importance clinique.

La différence entre les concentrations de protéines et d'albumine après 1, 3, 6 ou 12 mois de stockage et la valeur de référence n'est devenue analytiquement significative qu'entre 6 et 12 mois de stockage.

La concentration de glucose a montré une modification analytiquement significative entre 3 et 6 mois de stockage et jusqu'à 12 mois de stockage.

Les activités de l'ALAT et de la PAL ainsi que les concentrations de calcium et d'urée ont présenté une variation analytiquement significative à partir de 3 mois de stockage du plasma hépariné à -20°C.

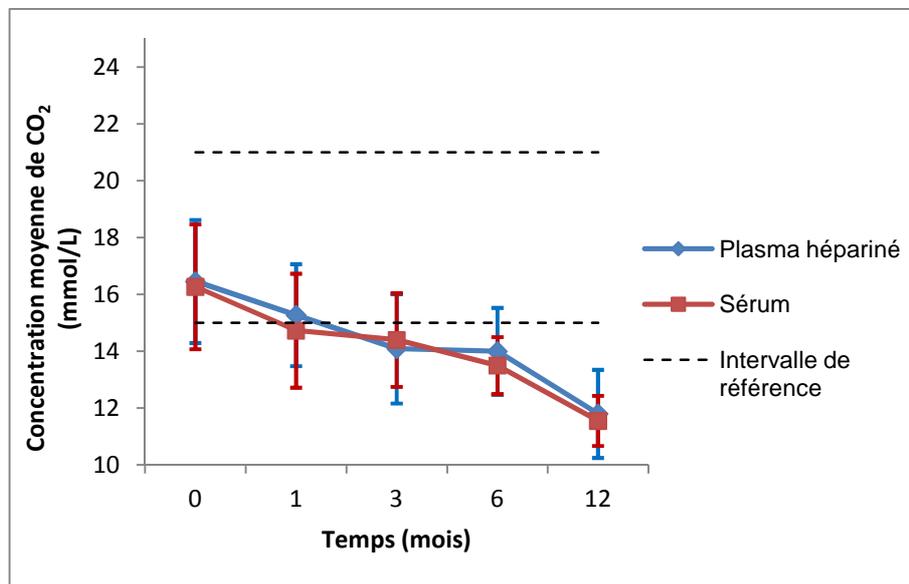
Enfin, le sodium, le CO<sub>2</sub> et le phosphate ont présenté des variations analytiquement significatives par rapport à la valeur de référence dès 1 mois de stockage du plasma hépariné à -20°C.

Les pourcentages de variation de la concentration moyenne des différents analytes dans le plasma hépariné en fonction de sa durée de congélation sont décrits dans le tableau 12.

Le CO<sub>2</sub> et l'ALAT sont les deux variables les plus affectées par la durée du stockage.

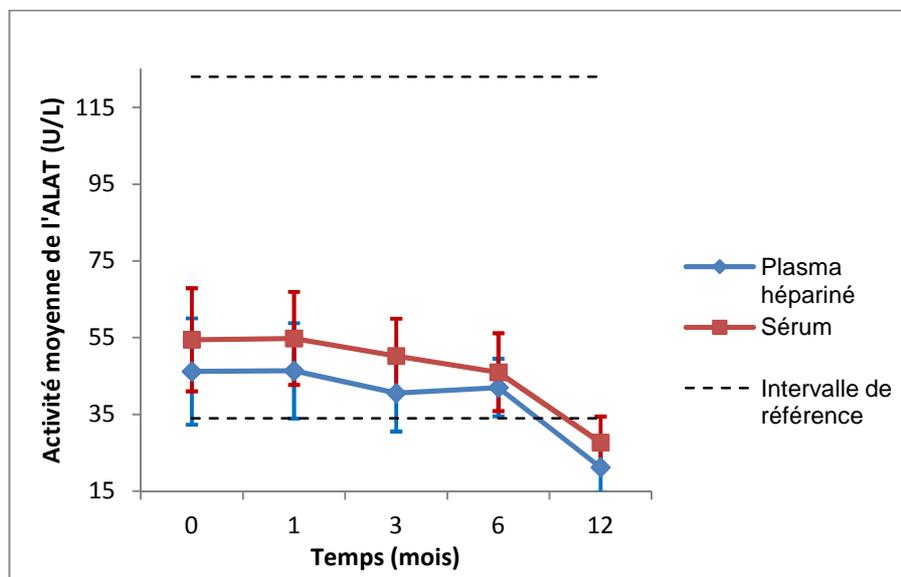
Dans le sérum, après 1 mois de stockage à -20°C, la concentration de CO<sub>2</sub> a diminué de 9.5 % par rapport à la valeur obtenue lors de l'analyse immédiate (Figure 9). Cette diminution du CO<sub>2</sub> dans le sérum s'est accentuée lorsque le stockage à -20°C a été prolongé et la diminution de la concentration a atteint 29.0 % après 12 mois de stockage.

Dans le plasma hépariné, après 3 mois de stockage, la concentration de CO<sub>2</sub> total a diminué de 14.4 %. Cette baisse a atteint 28.3 % de la valeur de référence après 12 mois de stockage ( $p < 0.001$ ) (Figure 9) (Tableau 12).



*Figure 9 : Evolution de la concentration moyenne de CO<sub>2</sub> en fonction du temps dans le plasma et le sérum conservés à -20°C*

Entre 3 et 6 mois de stockage, la concentration moyenne d'activité de l'ALAT a montré une diminution allant jusqu'à 9.1 % dans le sérum et 15.5 % dans le plasma hépariné. L'activité moyenne de l'ALAT a diminué respectivement de 49.2 % et 54.1 % dans le sérum et le plasma hépariné ( $p < 0.001$ ) après 12 mois de congélation par rapport aux valeurs de référence obtenues lors de l'analyse immédiate (Figure 10).



*Figure 10 : Evolution de l'activité moyenne de l'ALAT en fonction du temps dans le plasma et le sérum conservés à -20°C*

### *2.2.3. Etude 3 : Effet du délai de centrifugation, de la durée et de la température de stockage des échantillons de plasma/sang total hépariné sur les résultats d'analyses biochimiques*

Au cours de l'expérimentation, les échantillons ont été stockés pendant 6 heures, 24 heures, 48 heures ou 7 jours. Cette expérimentation a permis d'étudier l'effet du délai de centrifugation d'un échantillon de sang total stocké à 4°C ou à température ambiante ainsi que l'effet de la durée du stockage du plasma hépariné à 4°C ou à température ambiante sur les résultats d'analyses biochimiques.

Dans le cas d'un stockage sous forme de sang total à température ambiante, 7 des 13 variables biochimiques étudiées ont été affectées de manière statistiquement significative par la durée de stockage : le glucose ( $p < 0.001$ ), le sodium ( $p < 0.001$ ), le potassium ( $p < 0.001$ ), le chlore ( $p = 0.001$ ), le  $\text{CO}_2$  ( $p = 0.007$ ), le phosphate ( $p < 0.001$ ) et l'albumine ( $p < 0.001$ ). Leurs concentrations sont détaillées dans le tableau 13.

*Tableau 13 : Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné en fonction de la durée de conservation du sang total à 20°C*

Analyte	Analyse immédiate	Durée de stockage (h)			
		6	24	48	168
Glucose (mmol/L)	5.0±0.4	4.0±0.4	1.3±0.5 <sup>a</sup>	0.6±0.2 <sup>b</sup>	0.6±0.0 <sup>c</sup>
Urée (mmol/L)	7.5±0.7	7.4±0.7	7.2±0.7	7.2±0.8	7.4±0.8
Créatinine (µmol/L)	112 ±20	115±22	116±21	116±22	113±23
Sodium (mmol/L)	155±1	155±1	157±1	156±1	155±1
Potassium (mmol/L)	3.8±0.2	3.7±0.2	3.9±0.2	4.1±0.2	4.5±0.2
Chlore (mmol/L)	126±1	126±1	125±1	124±1	123±2
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	17±2	16±1	16±2	15±1	17±1
Calcium (mmol/L)	2.44±0.05	2.48±0.05	2.50±0.03	2.49±0.04	2.47±0.03
Phosphate (mmol/L)	1.17±0.17	1.20±0.16	1.26±0.18	1.43±0.17	2.15±0.22
Protéines (g/L)	69±3	70±4	71±4	71±4	73±5
Albumine (g/L)	32.6±0.9	33.0±0.9	33.9±1.2	34.3±1.2	35.3±1.2
ALAT (U/L)	48 ±12	55±14	56±15	58±13	63±9
PAL (U/L)	29±6	28±6	30±10	28±6	26±4

<sup>a</sup> 1 chat avait une concentration plasmatique <5.5 mmol/L. Une valeur de 5.5 U/L a été arbitrairement attribuée à ce chat.

<sup>b, c</sup> 7 chats avaient une concentration plasmatique <5.5 mmol/L. Une valeur de 5.5 U/L a été arbitrairement attribuée à ces chats. Les valeurs surlignées sont celles présentant une différence significative avec la valeur de référence obtenue lors de l'analyse immédiate du spécimen de sang total

Lorsque le sang total a été stocké à 4°C, seuls le glucose (p<0.001) et le potassium (p<0.001) ont été influencés par la durée de ce stockage. La concentration des différents analytes est indiquée dans le tableau 14.

*Tableau 14 : Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné en fonction de la durée de conservation du sang total à 4°C*

Analyte	Analyse immédiate	Durée de stockage (h)			
		6	24	48	168
Glucose (mmol/L)	5.0±0.4	4.9±0.3	4.5±0.3	4.1±0.4	2.4±0.6
Urée (mmol/L)	7.5±0.7	7.4±0.7	7.4±0.8	7.4±0.7	7.3±0.8
Créatinine (µmol/L)	112±20	114±21	114±21	114±21	114±22
Sodium (mmol/L)	155±1	154±0	155±1	155±1	155±1
Potassium (mmol/L)	3.8±0.2	4.1±0.2	4.3±0.2	4.4±0.2	4.6±0.2
Chlore (mmol/L)	126±1	126±1	126±1	126±1	125±1
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	17±2	17±1	17±1	17±1	17±2
Calcium (mmol/L)	2.44±0.05	2.45±0.04	2.45±0.03	2.44±0.04	2.43±0.02
Phosphate (mmol/L)	1.17±0.17	1.17±0.16	1.20±0.16	1.22±0.17	1.32±0.18
Protéines (g/L)	69±3	69±3	69±3	70±3	70±3
Albumine (g/L)	32.6±0.9	32.6±1.0	32.8±1.0	33.0±1.0	33.9±0.9
ALAT (U/L)	48 ±12	49±12	51±13	52±13	53±12
PAL (U/L)	29±6	28±6	28±6	28±6	26±3

Les valeurs surlignées sont celles présentant une différence significative avec la valeur de référence obtenue lors de l'analyse immédiate du spécimen de sang total

Lors d'un stockage des spécimens sous forme de plasma hépariné à 20°C (p<0.001) ou à 4°C (p=0.007), le sodium a été l'unique analyte pour lequel la durée du stockage a eu une influence significative. Les tableaux 15 et 16 décrivent les concentrations des différents analytes selon le mode et la durée du stockage.

*Tableau 15: Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné en fonction de la durée de conservation du plasma à 20°C*

Analyte	Analyse immédiate	Durée de stockage (h)			
		6	24	48	168
Glucose (mmol/L)	5.0±0.4	5.0±0.3	5.0±0.3	6.0±0.3	4.9±0.3
Urée (mmol/L)	7.5±0.7	7.5±0.7	7.4±0.7	7.4±0.8	7.4±0.8
Créatinine (µmol/L)	112±20	114±21	114±21	113±21	113±20
Sodium (mmol/L)	155±1	155±1	154±1	154±1	153±1
Potassium (mmol/L)	3.8±0.2	3.7±0.2	3.7±0.2	3.7±0.2	3.7±0.2
Chlore (mmol/L)	126±1	125±1	126±2	126±1	127±2
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	17±2	17±1	17±1	16±1	16±1
Calcium (mmol/L)	2.44±0.05	2.47±0.04	2.48±0.04	2.48±0.04	2.48±0.03
Phosphate (mmol/L)	1.17±0.17	1.17±0.17	1.18±0.17	1.20±0.17	1.37±0.16
Protéines (g/L)	69±3	69±4	69±3	70±3	69±4
Albumine (g/L)	32.6±0.9	32.5±1.1	32.4±1.1	32.6±1.0	32.5±1.1
ALAT (U/L)	48 ±12	56±15	58±14	59±13	59±12
PAL (U/L)	29±6	28±5	28±5	28±5	27±5

Les valeurs surlignées sont celles présentant une différence significative avec la valeur de référence obtenue lors de l'analyse immédiate du spécimen plasma hépariné

*Tableau 16: Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné en fonction de la durée de conservation du plasma à 4°C*

Analyte	Analyse immédiate	Durée de stockage (h)			
		6	24	48	168
Glucose (mmol/L)	5.0±0.4	5.0±1.4	5.0±0.3	5.0±0.3	5.0±0.4
Urée (mmol/L)	7.5±0.7	7.4±0.8	7.4±0.7	7.4±0.7	7.4±0.8
Créatinine (µmol/L)	112±20	114±20	114±20	114±21	112±20
Sodium (mmol/L)	155±1	155±1	155±1	155±1	153±1
Potassium (mmol/L)	3.8±0.2	3.8±0.1	3.8±0.2	3.8±0.2	3.7±0.2
Chlore (mmol/L)	126±1	125±2	126±2	125.50±1	126±2
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	17±2	18±2	18±1	18±1	18±1
Calcium (mmol/L)	2.44±0.05	2.46±0.04	2.46±0.04	2.46±0.03	2.44±0.03
Phosphate (mmol/L)	1.17±0.17	1.16±0.18	1.17±0.17	1.17±0.17	1.18±0.16
Protéines (g/L)	69±3	69±4	69±3	69±3	68±5
Albumine (g/L)	32.6±0.9	32.2±1.0	32.1±1.1	31.9±1.0	31.7±1.1
ALAT (U/L)	48 ±12	50±12	50±12	51±13	53±13
PAL (U/L)	29±6	28±5	28±5	28±5	28±5

Les valeurs surlignées sont celles présentant une différence significative avec la valeur de référence obtenue lors de l'analyse immédiate du spécimen de plasma hépariné

Pour étudier l'effet de la durée de stockage du sang total à température ambiante, la différence des concentrations des variables dans le plasma hépariné après 6 heures, 24 heures, 48 heures et 7 jours de conservation du sang total à température ambiante avec celles obtenues lors de l'analyse immédiate a été calculée pour les analytes significativement influencés par la durée de stockage. Ces différences sont décrites dans le tableau 17.

*Tableau 17 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le plasma hépariné après 6, 24, 48 ou 168 heures de stockage du sang total à température ambiante et lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par la durée de conservation du sang total à température ambiante.*

		<b>Glucose (mmol/L)</b>	<b>Sodium (mmol/L)</b>	<b>Potassium (mmol/L)</b>	<b>Chlore (mmol/L)</b>	<b>CO<sub>2</sub> (mmol/L)</b>	<b>Phosphate (mmol/L)</b>	<b>Albumine (g/L)</b>
<b>Différence médiane (min ; max)</b>	<b>6 heures</b>	-1.0 (-1.4 ; -0.6)	-1 (-1 ; 1)	-0.1 (-0.2 ; 0.1)	-1 (-2 ; 1)	-1.5 (-2 ; 0)	0.03 (0.01 ; 0.06)	0.5 (-0.1 ; 0.9)
	<b>24 heures</b>	-3.7 (-4.9 ; -2.7)	1.5 (0 ; 3)	0.0 (-0.1 ; 0.3)	-1 (-3 ; 0)	-2 (-4 ; 0)	0.11 (0.03 ; 0.14)	2.2 (0.7 ; 2.2)
	<b>48 heures</b>	-4.4 (-5.0 ; -3.5)	1 (-1 ; 3)	0.3 (0.3 ; 0.6)	-2 (-2 ; -2)	-3 (-4 ; -2)	0.26 (0.22 ; 0.32)	1.8 (0.7 ; 2.6)
	<b>168 heures</b>	-4.3 (-5.0 ; -3.9)	-1 (-1 ; 1)	0.6 (0.6 ; 0.9)	-3 (-4 ; -2)	-1 (-2 ; 0)	0.89 (0.82 ; 1.16)	2.4 (1.7 ; 3.6)
<b>IR</b>		<b>4.1-8.2</b>	<b>153-161</b>	<b>3.3-4.2</b>	<b>120-127</b>	<b>15-21</b>	<b>1.1-2.1</b>	<b>27-39</b>
<b>Pourcentage de variation de la valeur moyenne par rapport à la valeur de moyenne de référence (%)</b>	<b>6 heures</b>	-20.2	0.2	-2.0	0.3	-6.5	2.5	1.4
	<b>24 heures</b>	-74.6	1.5	2.3	-1.0	-10.8	8.2	4.1
	<b>48 heures</b>	-87.7	1.2	9.6	-1.6	-15.8	22.2	5.2
	<b>168 heures</b>	-88.8	0.3	18.5	-2.5	-4.6	84.2	8.3
<b>Variabilité analytique</b>		0.03	1.49	0.08	2.09	0.73	0.01	0.86
Les valeurs surlignées sont celles pour lesquelles la médiane des différences est supérieure à la variabilité analytique IR= intervalle de référence								

La différence entre les concentrations de chlore après 6, 24, 48 et 168 heures de stockage et la valeur de référence n'est apparue comme analytiquement significative qu'à partir de 7 jours de stockage.

La concentration plasmatique de potassium a présenté des variations analytiquement significatives dès 48 heures de stockage.

Les concentrations de sodium, de phosphate et d'albumine ont été modifiées de manière analytiquement significative à partir de 24 heures de stockage du sang total à température ambiante.

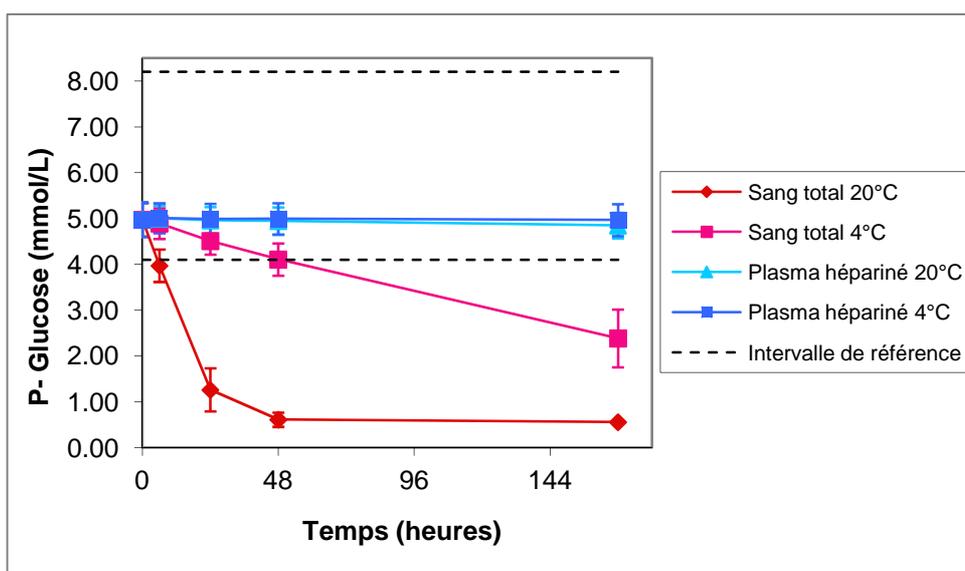
Enfin, le glucose, et le CO<sub>2</sub> ont présenté des variations analytiquement significatives par rapport à la valeur de référence dès 6 heures de stockage.

Les pourcentages de variation de la concentration moyenne des différents analytes dans le plasma hépariné après 6, 24, 48 et 7 jours de stockage du sang total à température ambiante par rapport au spécimen de référence sont inscrits dans le tableau 17.

Lors du stockage de sang total à température ambiante, la concentration d'albumine a augmenté significativement dès 24 heures de stockage ( $p<0.001$ ), mais après 7 jours de stockage ( $p<0.001$ ) cette augmentation n'a atteint que 8.3 % de la valeur de référence.

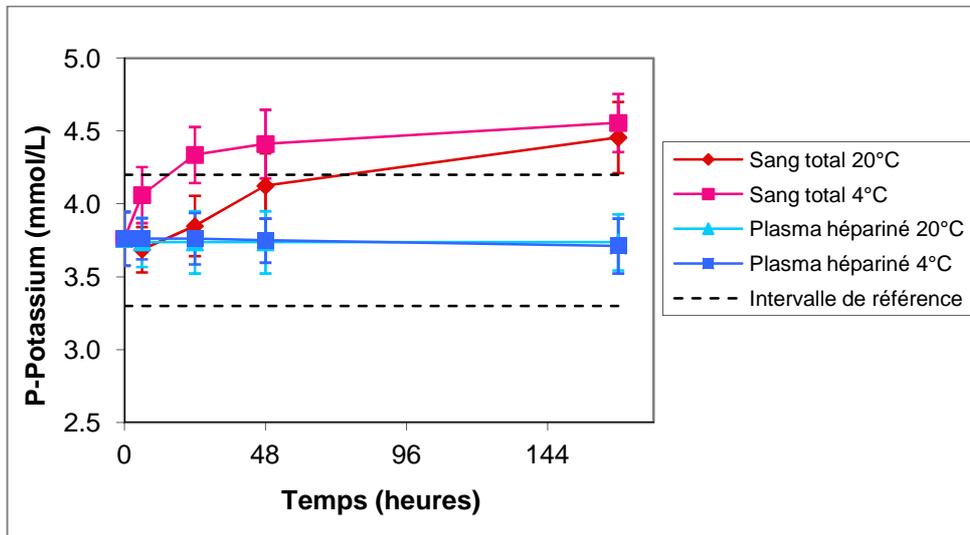
Dans les mêmes conditions, la concentration de sodium a significativement augmenté dès 24 heures de stockage, mais cette augmentation n'a pas dépassé 1.5 % de la valeur de référence.

La concentration de glucose a été significativement diminuée de 20.2 % dès 6 heures de stockage ( $p<0.001$ ). Cette concentration a continué de diminuer jusqu'à atteindre 0.5 mmol/L après 7 jours de stockage ( $p<0.001$ ) soit une diminution de 88.8 % (Figure 11).



*Figure 11 : Evolution de la concentration moyenne de glucose en fonction de la durée du stockage dans les différents spécimens*

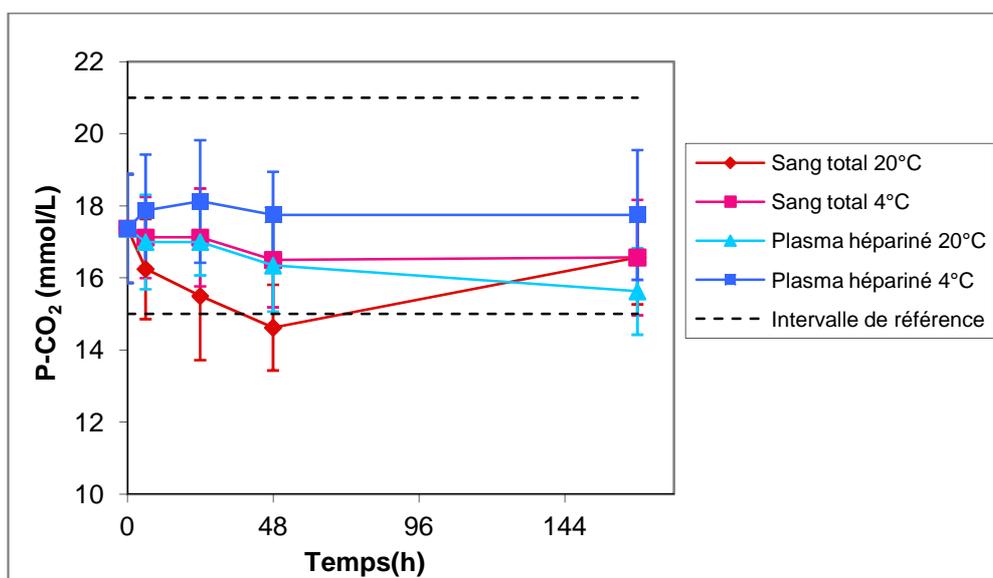
Par ailleurs, lors de ce mode de stockage, la concentration de potassium a également été modifiée. Elle a significativement augmenté ( $p<0.001$ ) de 9.6 % par rapport à la valeur de référence après 48 heures de stockage, puis de 18.5 % après 7 jours de stockage (Figure 12) (Tableau 17).



*Figure 12: Evolution de la concentration moyenne de potassium en fonction de la durée du stockage dans les différents spécimens*

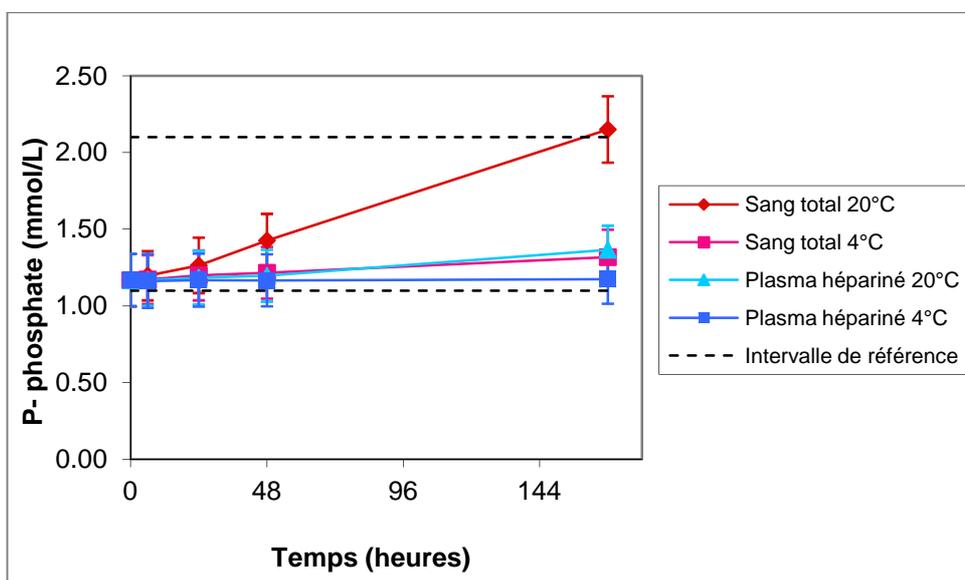
La concentration de  $\text{CO}_2$ , quant à elle, a été modifiée de manière aléatoire. Elle a d'abord diminué de 6.5 % ( $p=0.014$ ) à partir de la valeur obtenue au moment du prélèvement jusqu'à 6 heures de stockage, puis cette diminution a atteint 15.8 % de la valeur de référence à partir de 48 heures de stockage ( $p<0.001$ ) (Figure 13) (Tableau 17). Après 7 jours de stockage du sang total à  $20^\circ\text{C}$ , la concentration plasmatique de  $\text{CO}_2$  a significativement réaugmenté et la valeur après 7 jours de stockage n'est plus inférieure que de 4.6 % par rapport à la valeur de référence ( $p<0.001$ ).

Le  $\text{CO}_2$  est donc instable dans le spécimen de sang total conservé à  $20^\circ\text{C}$ .



*Figure 13: Evolution de la concentration moyenne de  $\text{CO}_2$  en fonction de la durée du stockage dans les différents spécimens*

De même, la concentration de phosphate a significativement augmenté de 8.2 % par rapport à la valeur de référence dès 24 heures de stockage du sang total à 20°C ( $p<0.001$ ). Sa concentration dans le plasma hépariné a continué d'augmenter jusqu'à 7 jours de stockage ( $p<0.001$ ) (Figure 14) (Tableau 18).



*Figure 14: Evolution de la concentration moyenne de phosphate en fonction de la durée du stockage dans les différents spécimens*

Enfin, la concentration de chlore a été affectée et a significativement diminué de 1.0 % par rapport à la valeur de référence entre 6 et 24 heures de stockage ( $p=0.001$ ). Entre 48 heures et 7 jours de stockage du sang total à 20°C, cette diminution a atteint 2.5 % de la valeur de référence.

La conservation d'un spécimen de sang sous forme de sang total à température ambiante (20°C) entraîne donc des modifications de nombreux analytes : le glucose, le potassium, le chlore, le CO<sub>2</sub>, et le phosphate. Les concentrations de glucose et de CO<sub>2</sub> sont modifiées dès 6 heures de stockage, celles de sodium et d'albumine sont modifiées dès 24 heures de stockage et celles de potassium, de chlore et de phosphate dès 48 heures de stockage.

Pour étudier l'effet de la durée de stockage du sang total à 4°C, la différence des concentrations plasmatiques des variables après 6 heures, 24 heures, 48 heures et 7 jours de conservation du sang total à 4°C avec celles obtenues lors de l'analyse immédiate a été calculée pour les analytes significativement influencés par la durée de réfrigération du sang total. Ces différences sont décrites dans le tableau 18.

*Tableau 18 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le plasma hépariné après 6, 24, 48 ou 168 heures de stockage du sang total à 4°C et lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par la durée de conservation du sang total à 4°C*

		<b>Glucose (mmol/L)</b>	<b>Potassium (mmol/L)</b>
<b>Différence médiane (min ; max)</b>	<b>6 heures</b>	-0.1 (-0.2 ; 0.1)	0.3 (0.1 ; 0.4)
	<b>24 heures</b>	-0.5 (-0.8 ; -0.3)	0.6 (0.5 ; 0.7)
	<b>48 heures</b>	-0.8 (-1.4 ; -0.6)	0.6 (0.5 ; 0.9)
	<b>168 heures</b>	-2.4 (-4.0 ; -1.9)	0.8 (0.6 ; 1.0)
<b>IR</b>		<b>4.1-8.2</b>	<b>3.3-4.2</b>
<b>Pourcentage de variation de la valeur moyenne par rapport à la valeur de moyenne de référence (%)</b>	<b>6 heures</b>	-1.7	8.0
	<b>24 heures</b>	-9.4	15.3
	<b>48 heures</b>	-17.5	17.3
	<b>168 heures</b>	-52.0	21.1
<b>Variabilité analytique</b>		0.03	0.08

Les valeurs surlignées sont celles pour lesquelles la médiane des différences est supérieure à la variabilité analytique  
IR= intervalle de référence

Les médianes des différences entre les valeurs après 6, 24, 48 ou 168 heures de stockage et les valeurs obtenues lors de l'analyse immédiate ont été supérieures à la variabilité analytique dès 6 heures de stockage pour le potassium et dès 24 heures de stockage pour le glucose. Les pourcentages de variation de la concentration moyenne de glucose et de potassium dans le plasma hépariné après 6, 24, 48 et 7 jours de stockage du sang total à 4°C par rapport au spécimen de référence sont inscrits dans le tableau 18.

Lors du stockage du sang total à 4°C, la diminution de la concentration de glucose a été ralentie par rapport à celle observée dans le sang total laissé à température ambiante. Après 24 heures de stockage, une diminution significative de 9.4 % (p=0.001) de cette concentration a été observée. A partir de 48 heures de stockage (p<0.001) cette diminution a atteint 17.5 % de la valeur de référence (p<0.001) puis 52.0 % à partir de 7 jours de stockage (Figure 11) (Tableau 18).

La concentration plasmatique de potassium a, elle, été significativement augmentée de 8.0 % dès 6 heures de stockage à 4°C du sang total (p<0.001) (Tableau 18). L'augmentation de la concentration de potassium a continué lorsque la durée du stockage a augmenté et a atteint 21.1 % de la valeur de référence entre 48 heures et 7 jours de stockage (Figure 12).

Lorsque le sang total a été réfrigéré, le nombre d'analytes biochimiques influencés par la durée du stockage a été moins important. Seuls les concentrations de potassium et de glucose ont été modifiés dans ces conditions respectivement entre le moment de collecte du

sang et 6 heures de stockage pour le potassium et entre 6 et 24 heures de stockage pour le glucose.

Pour étudier l'effet de la durée de stockage du plasma hépariné à température ambiante, la différence des concentrations des variables dans le plasma hépariné après 6 heures, 24 heures, 48 heures et 7 jours de conservation du plasma à température ambiante avec celles obtenues lors de l'analyse immédiate a été calculée pour les analytes significativement influencés par la durée de stockage. Ces différences sont décrites dans le tableau 19.

*Tableau 19 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le plasma hépariné après 6, 24, 48 ou 168 heures de stockage du plasma à température ambiante et lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par la durée de conservation du plasma à température ambiante.*

		<b>Sodium (mmol/L)</b>
<b>Différence médiane (min ; max)</b>	<b>6 heures</b>	-1 (-1 ; 1)
	<b>24 heures</b>	-2 (-2 ; 0)
	<b>48 heures</b>	-2 (-3 ; 0)
	<b>168 heures</b>	-2 (-4 ; -1)
<b>IR</b>		<b>153-161</b>
<b>Pourcentage de variation de la valeur moyenne par rapport à la valeur de moyenne de référence (%)</b>	<b>6 heures</b>	0.3
	<b>24 heures</b>	-0.4
	<b>48 heures</b>	-0.4
	<b>168 heures</b>	-0.8
<b>Variabilité analytique</b>		1.49
<small>Les valeurs surlignées sont celles pour lesquelles la médiane des différences est supérieure à la variabilité analytique IR= intervalle de référence</small>		

Les médianes des différences ont été supérieures à la variabilité analytique dès 24 heures de stockage du plasma hépariné à température ambiante. Les concentrations de sodium dans le plasma hépariné après 24, 48 ou 168 heures de stockage de ce plasma à température ambiante sont donc analytiquement différentes de celles obtenues dans le plasma hépariné lors d'une analyse immédiate. Les pourcentages de variation de la concentration moyenne de sodium dans le plasma hépariné après 6, 24, 48 et 7 jours de stockage du plasma à température ambiante par rapport au spécimen de référence sont indiqués dans le tableau 19.

Pour étudier l'effet de la durée de stockage du plasma hépariné à 4°C, la différence des concentrations des variables dans le plasma hépariné après 6 heures, 24 heures, 48 heures et 7 jours de réfrigération du plasma hépariné avec celles obtenues lors de l'analyse immédiate a été calculée pour les analytes significativement influencés par la durée de stockage. Ces différences sont décrites dans le tableau 20.

*Tableau 20 : Analyse de la différence entre les concentrations dans le plasma hépariné après 6, 24, 48 ou 168 heures de stockage du plasma à 4°C et lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par la durée de conservation du plasma à 4°C*

		<b>Sodium (mmol/L)</b>
<b>Différence médiane (min ; max)</b>	<b>6 heures</b>	0 (-1 ; 1)
	<b>24 heures</b>	-1 (-2 ; 1)
	<b>48 heures</b>	0 (-3 ; 1)
	<b>168 heures</b>	-2 (-5 ; 0)
<b>IR</b>		<b>153-161</b>
<b>Pourcentage de variation de la valeur moyenne par rapport à la valeur de moyenne de référence (%)</b>	<b>6 heures</b>	0.5
	<b>24 heures</b>	0.2
	<b>48 heures</b>	0.4
	<b>168 heures</b>	-0.7
<b>Variabilité analytique</b>		1.49
Les valeurs surlignées sont celles pour lesquelles la médiane des différences est supérieure à la variabilité analytique IR= intervalle de référence		

La médiane des différences de la concentration de sodium est supérieure à la variabilité analytique à partir de 7 jours de stockage du plasma hépariné à 4°C. Les pourcentages de variation de la concentration moyenne de sodium dans le plasma hépariné après 6, 24, 48 et 7 jours de stockage du plasma à 4°C par rapport au spécimen de référence sont inscrits dans le tableau 20.

Lorsque le plasma a été stocké à 20°C, la concentration de sodium a significativement diminué de 0.4 % dès 24 heures de stockage (p=0.001). Lorsque le plasma hépariné a été stocké à 4°C, les mêmes modifications se sont produites, mais seulement entre 48 heures et 7 jours de stockage.

#### 2.2.4. Etude 4 : Effet du moment de prélèvement et du repas

Lors de chaque session, pour l'ensemble des chats, les prélèvements sanguins ont été effectués sur une durée allant de 7 à 31 minutes.

Le chat Q maintenu à jeun était agité et a nécessité une contention forte lors du prélèvement effectué à 16 heures. Les concentrations plasmatiques des variables biochimiques sur ce prélèvement étaient éloignées de celles obtenues chez les autres chats à jeun à 16 heures ou chez ce même chat lors des autres prélèvements, pour 7 des 15 variables étudiées. Les concentrations de glucose, de phosphate, de protéines et d'albumine étaient augmentées tandis que celles de créatinine, de cholestérol et de CO<sub>2</sub> étaient diminuées. Ceci nous a conduit à exclure de l'analyse le prélèvement effectué à 16 heures chez le chat Q à jeun.

## Effet de l'heure de prélèvement sur les chats à jeun

Chez les chats à jeun, 9 des 15 variables biochimiques plasmatiques ont été significativement modifiées en fonction de l'heure de prélèvement : l'urée ( $p < 0.001$ ), la créatinine ( $p < 0.001$ ), le sodium ( $p = 0.047$ ), le  $\text{CO}_2$  ( $p = 0.013$ ), le calcium ( $p = 0.011$ ), le cholestérol ( $p < 0.001$ ), les triglycérides ( $p = 0.001$ ), les protéines totales ( $p = 0.039$ ) et l'ALAT ( $p = 0.043$ ).

Leurs concentrations respectives sont décrites dans le tableau 21.

*Tableau 21 : Concentration (moyenne  $\pm$  SD) des différents analytes dans le plasma hépariné en fonction du moment de la journée chez les chats à jeun*

Analyte	Heure de prélèvement						
	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	18 h	20 h
Glucose (mmol/L)	4.2 $\pm$ 0.3	4.3 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.4	4.3 $\pm$ 0.3	4.2 $\pm$ 0.2	4.2 $\pm$ 0.3	4.3 $\pm$ 0.4
Urée (mmol/L)	6.8 $\pm$ 0.8	6.9 $\pm$ 0.6	7.3 $\pm$ 0.5	7.5 $\pm$ 0.7	7.6 $\pm$ 0.5	7.9 $\pm$ 0.8	7.9 $\pm$ 0.9
Créatinine ( $\mu\text{mol/L}$ )	103 $\pm$ 17	113 $\pm$ 20	122 $\pm$ 22	123 $\pm$ 24	119 $\pm$ 21	124 $\pm$ 26	124 $\pm$ 27
Sodium (mmol/L)	153 $\pm$ 1	153 $\pm$ 2	154 $\pm$ 2	153 $\pm$ 2	154 $\pm$ 1	154 $\pm$ 2	155 $\pm$ 2
Potassium (mmol/L)	3.7 $\pm$ 0.3	3.6 $\pm$ 0.3	3.6 $\pm$ 0.3	3.8 $\pm$ 0.2	3.5 $\pm$ 0.2	3.5 $\pm$ 0.3	3.5 $\pm$ 0.4
Chlore (mmol/L)	122 $\pm$ 1	122 $\pm$ 1	123 $\pm$ 1	122 $\pm$ 1	123 $\pm$ 1.0	122 $\pm$ 1	122 $\pm$ 1
$\text{CO}_2$ (mmol/L)	17 $\pm$ 2	16 $\pm$ 2	17 $\pm$ 1	17 $\pm$ 1	18 $\pm$ 1	17.50 $\pm$ 1	17 $\pm$ 1
Calcium (mmol/L)	2.37 $\pm$ 0.06	2.39 $\pm$ 0.07	2.40 $\pm$ 0.08	2.39 $\pm$ 0.07	2.39 $\pm$ 0.08	2.43 $\pm$ 0.09	2.42 $\pm$ 0.10
Phosphate (mmol/L)	1.23 $\pm$ 0.14	1.16 $\pm$ 0.09	1.18 $\pm$ 0.10	1.19 $\pm$ 0.11	1.20 $\pm$ 0.13	1.23 $\pm$ 0.14	1.24 $\pm$ 0.13
Cholestérol (mmol/L)	3.52 $\pm$ 0.58	3.43 $\pm$ 0.56	3.35 $\pm$ 0.57	3.48 $\pm$ 0.59	3.21 $\pm$ 0.55	3.35 $\pm$ 0.59	3.34 $\pm$ 0.61
Triglycérides (mmol/L)	0.30 $\pm$ 0.05	0.30 $\pm$ 0.03	0.27 $\pm$ 0.04	0.32 $\pm$ 0.05	0.25 $\pm$ 0.02	0.27 $\pm$ 0.03	0.26 $\pm$ 0.04
Protéines (g/L)	63 $\pm$ 2	61 $\pm$ 3	61 $\pm$ 4	63 $\pm$ 2	60 $\pm$ 3	62 $\pm$ 4	62 $\pm$ 5
Albumine (g/L)	29.8 $\pm$ 1.5	29.2 $\pm$ 2.0	29.2 $\pm$ 2.2	30.5 $\pm$ 1.5	28.8 $\pm$ 1.5	30.1 $\pm$ 2.3	29.9 $\pm$ 2.9
ALAT (U/L)	64 $\pm$ 18	63 $\pm$ 16	65 $\pm$ 15	66 $\pm$ 17	69 $\pm$ 11	67 $\pm$ 13	67 $\pm$ 11
PAL (U/L)	24 $\pm$ 6	26 $\pm$ 5	25 $\pm$ 3	25 $\pm$ 4	26 $\pm$ 3	26 $\pm$ 4	26 $\pm$ 5

Les valeurs surlignées sont celles présentant une différence significative avec la valeur de référence obtenue à 8h

Pour étudier l'effet de l'heure de prélèvement, la différence entre la valeur la plus élevée au cours de la journée et la valeur la plus basse a été calculée pour chaque chat, pour les analytes significativement influencés par l'heure de prélèvement. Cette différence représente l'amplitude maximale des variations circadiennes (Tableau 22).

*Tableau 22 : Analyse de la différence entre les concentrations maximales et les concentrations minimales dans le plasma hépariné entre 8 heures et 20 heures chez les chats à jeun pour les variables influencées par l'heure de prélèvement.*

Analyte	Médiane de l'amplitude maximale au cours de la journée (min ; max)	IR	Pourcentage de variation de la valeur moyenne entre la moyenne la plus basse et la moyenne la plus élevée au cours de la journée (%)	Variabilité analytique
Urée (mmol/L)	1.3 (0.5 ; 1.7)	<b>6.6-11.3</b>	16.4	0.19
Créatinine (µmol/L)	26 (12 ; 52)	<b>89-207</b>	20.5	2.85
Sodium (mmol/L)	4 (1 ; 6)	<b>153-161</b>	1.2	1.48
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	2 (1 ; 6)	<b>15-21</b>	9.8	0.69
Calcium (mmol/L)	0.1 (0.07 ; 0.3)	<b>2.4-2.9</b>	2.6	0.04
Cholestérol (mmol/L)	0.32 (0.15 ; 0.62)	<b>2.0-7.9</b>	9.6	0.07
Triglycérides (mmol/L)	0.09 (0.07 ; 0.15)	<b>0.2-1.8</b>	26.6	0.00
Protéines (g/L)	6 (3; 10)	<b>65-85</b>	4.7	0.50
ALAT (U/L)	8 (6 ; 18)	<b>34-123</b>	10.6	2.16

Les valeurs surlignées sont celles pour lesquelles la médiane de l'amplitude est supérieure à la variabilité analytique  
 IR= intervalle de référence

Les médianes des amplitudes de variation ont toutes été supérieures à la variabilité analytique. Les variations observées, pour ces analytes biochimiques, lors de l'amplitude maximale des variations circadiennes, sont donc analytiquement significatives. Les pourcentages de variation entre la valeur minimale des moyennes à chaque heure de prélèvement et la valeur maximale sont inscrits dans le tableau 22.

L'amplitude maximale de variation de la concentration moyenne d'urée sur la période étudiée a été de 1.1 mmol/L soit une variation de 16.4 %.

L'écart maximum entre les moyennes des concentrations de CO<sub>2</sub> au cours de la journée chez les chats à jeun a été de 1.6 mmol/L ce qui représente une variation de 9.8 %.

Enfin, l'amplitude maximale de variation de la concentration moyenne de créatinine au cours de la journée a été de 21 µmol/L soit une variation de 20.5 %.

Les courbes obtenues chez les chats à jeun nous permettent de décrire le profil des variations des ces analytes :

- La concentration d'urée était la plus basse à 8 heures/10 heures. Elle a augmenté à partir de 12 heures et a continué d'augmenter de manière progressive tout au long de la journée (Figure 15).

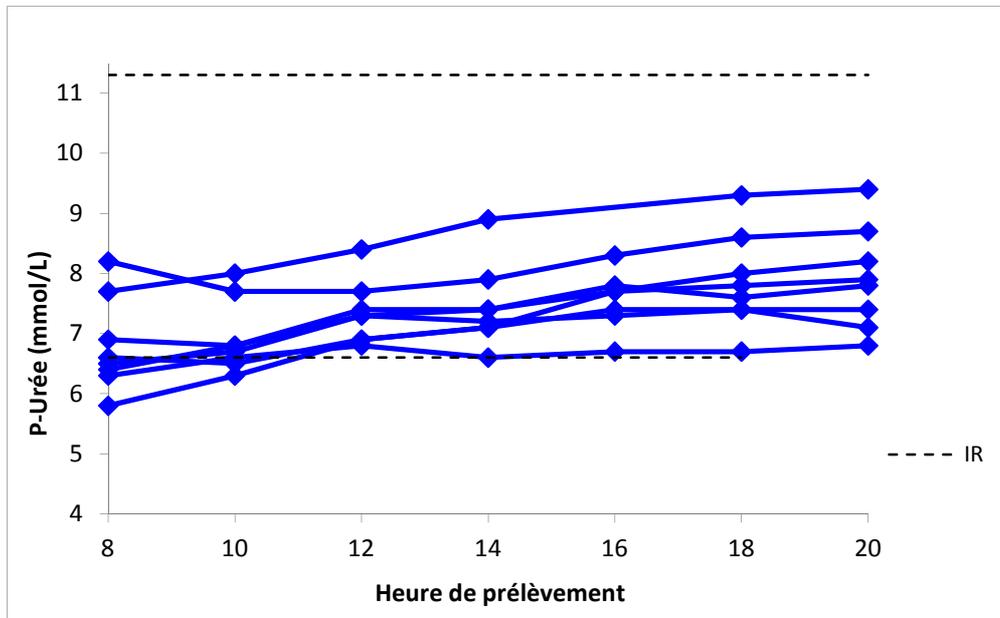


Figure 15 : Evolution de la concentration moyenne d'urée en fonction du moment de la journée chez 8 chats à jeun

-La concentration de  $\text{CO}_2$  a atteint un minimum à 10 heures et un maximum à 16 heures. Cette concentration est ensuite restée stable entre 16 et 20 heures (Figure 16).

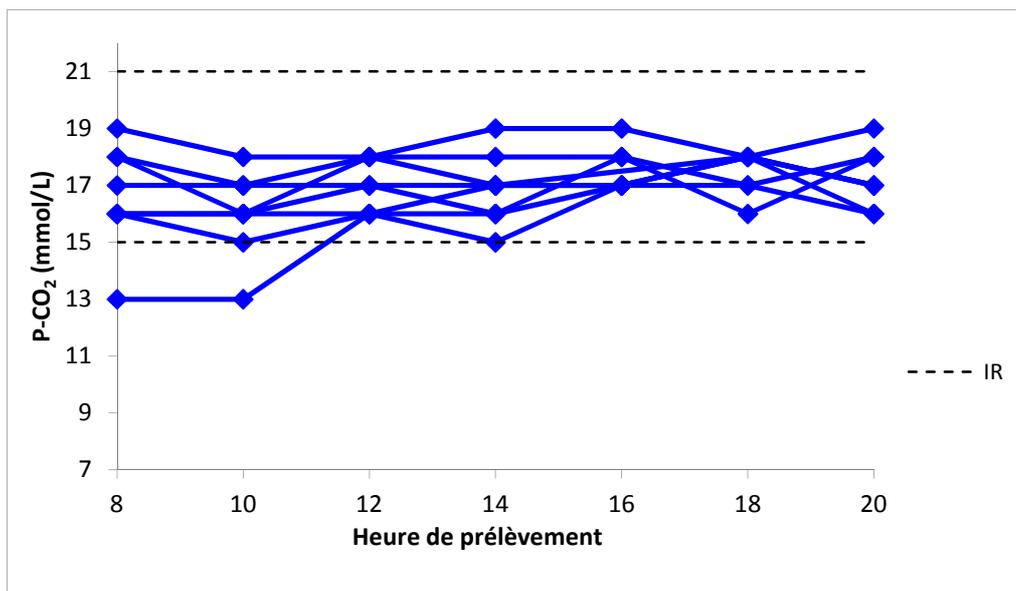
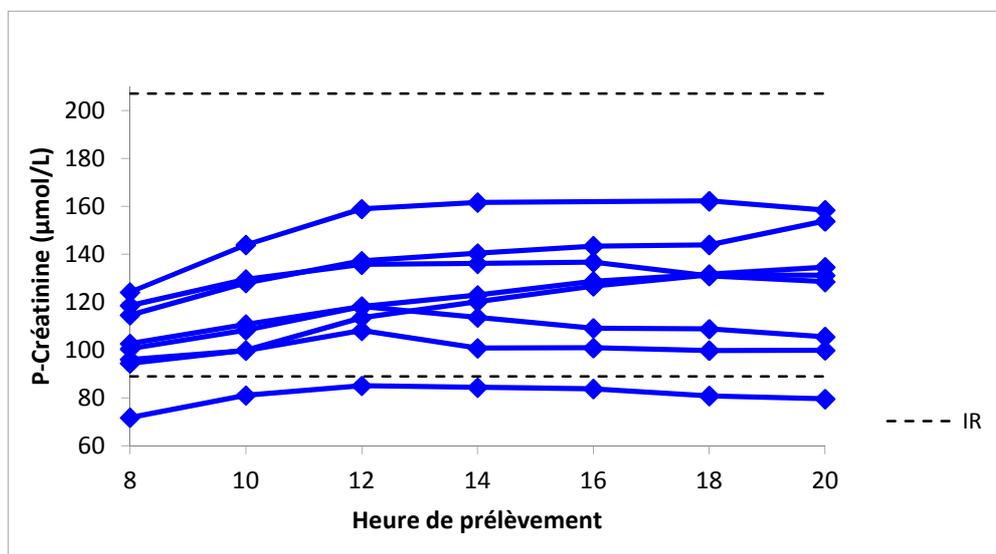


Figure 16 : Evolution de la concentration moyenne de  $\text{CO}_2$  en fonction du moment de la journée chez 8 chats à jeun

-La concentration de créatinine était la plus basse à 8 heures puis elle a augmenté entre 8 heures et 12 heures et est restée stable de 12 heures à 14 heures. Elle a ensuite présenté une diminution entre 14 heures et 16 heures avant de réaugmenter et de revenir à son niveau précédent à 18 heures (Figure 17).



*Figure 17 : Evolution de la concentration moyenne de créatinine en fonction du moment de la journée chez 8 chats à jeun*

### *Effet du repas*

L'étude a permis d'observer l'effet de la prise de nourriture sur les résultats d'analyses biochimiques.

Sept des quinze variables biochimiques ont été statistiquement modifiées par l'interaction entre le statut, à jeun ou nourri des chats, et l'heure de prélèvement: le glucose ( $p < 0.001$ ), l'urée ( $p < 0.001$ ), la créatinine ( $p < 0.001$ ), le sodium ( $p < 0.001$ ), le  $\text{CO}_2$  ( $p < 0.001$ ), le phosphate ( $p = 0.001$ ) et les triglycérides ( $p < 0.001$ ).

Les concentrations plasmatiques des analytes en fonction du moment de prélèvement sont détaillées dans le tableau 23.

*Tableau 23 : Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné en fonction du moment de la journée chez les chats nourris à 8 h*

Analyte	Heure de prélèvement						
	8 h	10 h	12 h	14 h	16 h	18 h	20 h
Glucose (mmol/L)	4.2±0.1	3.9±0.4	4.1±0.3	4.6±0.6	4.4±0.2	4.5±0.2	4.6±0.4
Urée (mmol/L)	6.7±0.7	8.2±0.6	9.7±0.6	10.2±0.6	10.5±0.7	10.0±0.8	9.8±0.8
Créatinine (µmol/L)	101±18	110±16	107±16	101±15	97±17	95±18	97±18
Sodium (mmol/L)	153±1	157±1	157±2	156±1	156±2	156±1	156±2
Potassium (mmol/L)	3.7±0.2	3.5±0.3	3.9±0.2	3.9±0.3	3.8±0.3	3.6±0.4	3.7±0.4
Chlore (mmol/L)	122±1	121±2	123±2	122±2	123±2	123±2	124±2
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	16±2	21±2	19±2	18±1	17±1	17±2	16±1
Calcium (mmol/L)	2.36±0.07	2.45±0.07	2.40±0.07	2.41±0.05	2.37±0.06	2.39±0.04	2.41±0.02
Phosphate (mmol/L)	1.22±0.05	1.29±0.12	1.32±0.19	1.41±0.19	1.46±0.19	1.47±0.16	1.42±0.12
Cholestérol (mmol/L)	3.53±0.57	3.61±0.63	3.49±0.56	3.57±0.56	3.48±0.57	3.58±0.61	3.52±0.53
Triglycérides (mmol/L)	0.28±0.04	0.59±0.17	0.61±0.19	0.61±0.26	0.62±0.19	0.47±0.11	0.50±0.15
Protéines (g/L)	62±3	64±3	62±3	63±2	62±4	63±3	62±3
Albumine (g/L)	29.6±1.7	30.9±1.7	29.6±2.4	30.7±1.9	29.7±1.9	30.3±1.6	29.9±1.3
ALAT (U/L)	62±17	63±18	61±16	61±15	60±14	62±14	62±15
PAL (U/L)	24±5	28±5	26±6	24±5	25±3	26±4	27±5

Les valeurs surlignées sont celles présentant une différence significative avec la valeur de référence obtenue à la même heure chez les chats à restés à jeun.

Pour étudier l'effet de la prise de nourriture, les différences entre les valeurs 2, 4, 6, 8, 10 et 12 heures après la prise du repas et celles obtenues à la même heure chez les chats à jeun ont été calculées (Tableau 24).

*Tableau 24 : Analyse de la différence entre les concentrations chez les chats nourris et les concentrations chez les chats laissés à jeun, prélevés à 8 h, 10 h, 12 h, 14 h, 16 h, 18 h et 20 h pour les variables influencées par l'interaction entre le statut (à jeun ou nourri) des chats et l'heure de prélèvement*

		<b>Glucose (mmol/L)</b>	<b>Urée (mmol/L)</b>	<b>Créatinine (µmol/L)</b>	<b>Sodium (mmol/L)</b>	<b>CO<sub>2</sub> (mmol/L)</b>	<b>Phosphate (mmol/L)</b>	<b>Triglycérides (mmol/L)</b>
<b>Différence médiane (min ; max)</b>	<b>8 h</b>	0.0 (-0.4 ; 0.3)	-0.3 (-0.4 ; 0.4)	-3 (-13 ; 7)	-1 (-2 ; 2)	-1 (-2 ; 2)	-0.02 (-0.2 ; 0.14)	-0.03 (-0.05 ; 0.01)
	<b>10 h</b>	-0.5 (-0.6 ; 0.0)	1.4 (0.7 ; 2)	-2 (-12 ; 13)	4 (1 ; 8)	5 (4 ; 7)	0.12 (-0.01 ; 0.32)	0.30 (0.05 ; 0.49)
	<b>12 h</b>	-0.2 (-0.5 ; 0.4)	2.3 (2 ; 3.2)	-15 (-29 ; 1)	4 (-1 ; 7)	2 (-1 ; 5)	0.11 (-0.05 ; 0.35)	0.38 (0.11 ; 0.63)
	<b>14 h</b>	0.26 (-0.3 ; 1.0)	2.6 (2.4 ; 3.4)	-18 (-42 ; -7)	3 (-1 ; 5)	1 (0 ; 4)	0.21 (-0.04 ; 0.32)	0.26 (-0.04 ; 0.66)
	<b>16 h</b>	0.1 (-3.4 ; 0.7)	2.8 (2.2 ; 3.4)	-23 (-60 ; -16)	2 (-4 ; 4)	0 (-2 ; 7)	0.18 (-0.01 ; 0.6)	0.30 (0.16 ; 0.73)
	<b>18 h</b>	0.4 (0.0 ; 0.6)	2.2 (1.4 ; 2.9)	-25 (-49 ; -15)	3 (-4 ; 4)	0 (-3 ; 2)	0.27 (-0.02 ; 0.55)	0.23 (0.05 ; 0.3)
	<b>20 h</b>	0.3 (-0.5 ; 1.0)	2.0 (0.9 ; 2.5)	-29 (-48 ; -12)	3 (-2 ; 4)	-1 (-3 ; 0)	0.16 (-0.06 ; 0.5)	0.24 (0.06 ; 0.52)
<b>IR</b>		<b>4.1-8.2</b>	<b>6.6-11.3</b>	<b>89-207</b>	<b>153-161</b>	<b>15-21</b>	<b>1.1-2.1</b>	<b>0.2-1.8</b>
<b>Pourcentage de variation de la valeur moyenne par rapport à la valeur de référence (%)</b>	<b>8 h</b>	-0.1	-1.3	-1.5	-0.2	-2.3	-1.1	-5.9
	<b>10 h</b>	-9.6	18.8	-2.2	3.0	33.6	11.2	97.1
	<b>12 h</b>	-3.2	32.4	-12.2	2.0	11.0	11.8	125.9
	<b>14 h</b>	6.6	37.1	-17.7	1.8	8.9	13.6	90.2
	<b>16 h</b>	5.4	38.3	-18.5	1.2	-1.1	21.5	146.2
	<b>18 h</b>	8.4	27.7	-22.9	1.3	-1.4	19.7	77.4
	<b>20 h</b>	6.5	23.4	-22.1	1.1	-5.1	14.4	91.9
<b>Variabilité analytique</b>	<b>8 h</b>	0.03	0.19	2.85	1.48	0.73	0.01	0.01
	<b>10 h</b>	0.03	0.19	3.12	1.48	0.69	0.01	0.01
	<b>12 h</b>	0.03	0.20	3.38	1.49	0.73	0.01	0.00
	<b>14 h</b>	0.03	0.21	3.39	1.48	0.73	0.01	0.01
	<b>16 h</b>	0.03	0.21	3.28	1.49	0.77	0.01	0.00
	<b>18 h</b>	0.03	0.22	3.43	1.49	0.77	0.01	0.00
	<b>20 h</b>	0.03	0.22	3.43	1.50	0.73	0.01	0.00

Les valeurs surlignées sont celles pour lesquelles la médiane des différences est supérieure à la variabilité analytique. La valeur de référence utilisée pour calculer la variabilité analytique à chaque heure de prélèvement, pour chaque variable, est la concentration moyenne à jeun.  
IR= intervalle de référence

Les différences entre les concentrations d'urée, de phosphate et de triglycérides chez les chats nourris et chez les chats à jeun prélevés aux mêmes heures ont toutes été analytiquement significatives de 8 heures à 20 heures.

La concentration de glucose a présenté des modifications analytiquement significatives chez les chats nourris par rapport aux chats à jeun, prélevés aux mêmes heures, à 10 heures et à 18 heures.

Les différences entre les concentrations de sodium chez les chats nourris et chez les chats à jeun prélevés aux mêmes heures ont été analytiquement significatives à 10 heures, 12 heures, 14 heures, et 18 heures.

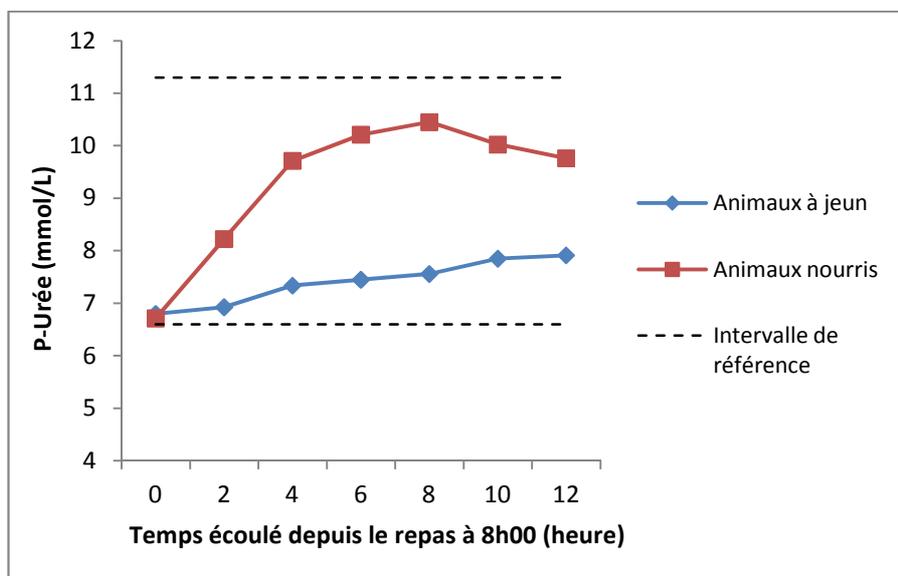
Les différences entre les concentrations de créatinine chez les chats nourris et chez les chats à jeun prélevés aux mêmes heures ont été analytiquement significatives de 12 heures à 20 heures.

Les différences entre les concentrations de CO<sub>2</sub> chez les chats nourris et chez les chats à jeun prélevés aux mêmes heures ont été analytiquement significatives à 8 heures, 10 heures, 12 heures, et 14 heures.

Les pourcentages de variation de la concentration plasmatique moyenne des différents analytes par rapport aux valeurs moyennes chez les chats à jeun prélevés aux mêmes heures en fonction du moment de prélèvement sont décrits dans le tableau 24.

La concentration de glucose dans le plasma hépariné a été, en moyenne, légèrement plus élevée chez les chats nourris (4.3 mmol/L) que chez les chats laissés à jeun (4.2 mmol/L). L'écart maximal entre les concentrations plasmatiques moyennes de glucose chez les chats nourris et chez les chats à jeun prélevés au même moment a été cependant seulement de 0.4 mmol/L ce qui semble peu important.

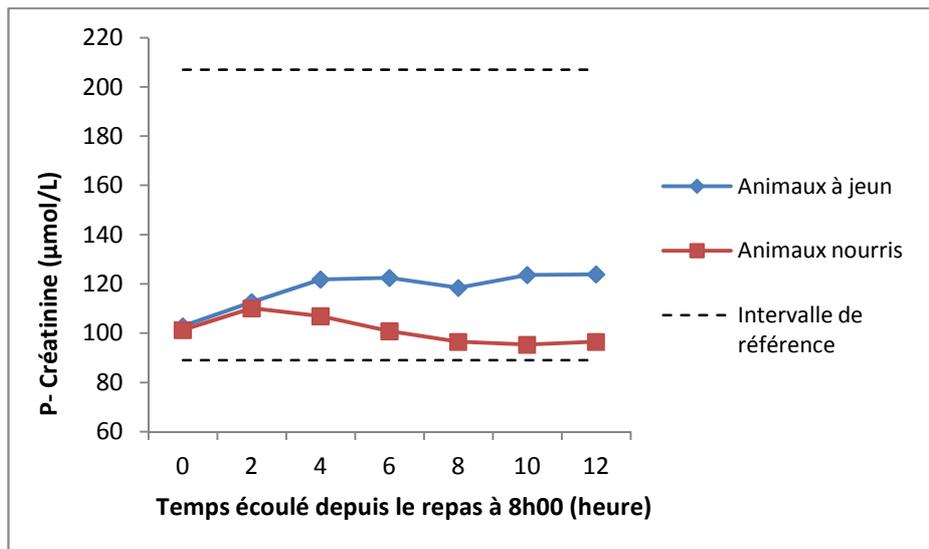
Pour l'urée, les valeurs chez les chats à jeun ont été, en moyenne, plus basses que celles mesurées chez les chats ayant reçu un repas. L'écart maximal entre les concentrations plasmatiques moyennes d'urée chez les chats nourris et chez les chats à jeun à un même moment de prélèvement est apparu 8 heures après la prise de nourriture. Cet écart maximal s'élève à 2.9 mmol/L, soit 38.2 % de la valeur moyenne à jeun à 16 heures (Figure 18).



*Figure 18: Evolution de la concentration moyenne d'urée en fonction du temps chez les chats à jeun depuis 12 heures et ceux nourris*

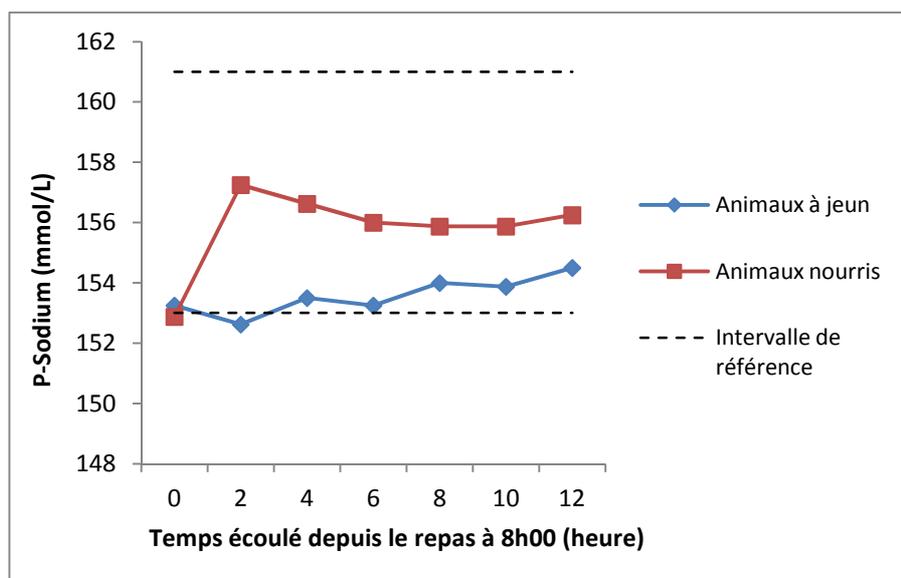
En moyenne, la concentration de créatinine a été plus élevée chez les animaux maintenus à jeun que chez les animaux ayant reçu un repas. Les résultats obtenus à un même moment de

prélèvement différaient au maximum de 28.4  $\mu\text{mol/L}$ , soit 29.7 % de la valeur chez les animaux nourris, 10 heures après la prise de nourriture (Figure 19).



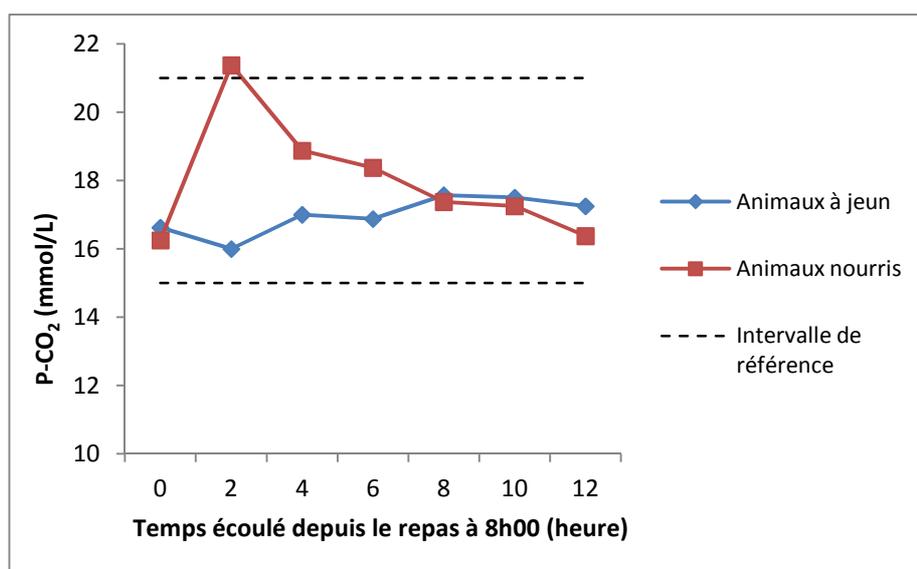
*Figure 19 : Evolution de la concentration moyenne de créatinine en fonction du temps chez les chats à jeun depuis 12 heures et ceux nourris*

En ce qui concerne le sodium, la concentration plasmatique moyenne chez les chats restés à jeun a été de 154 mmol/L tandis que chez ceux ayant reçu un repas, elle a été de 156 mmol/L. Lorsque ces concentrations moyennes ont été comparées heure par heure, la différence maximale était de 4.6 mmol/L soit 3.0 % de la valeur à jeun. Cet écart maximal a été visualisé 2 heures après la prise de nourriture (Figure 20).



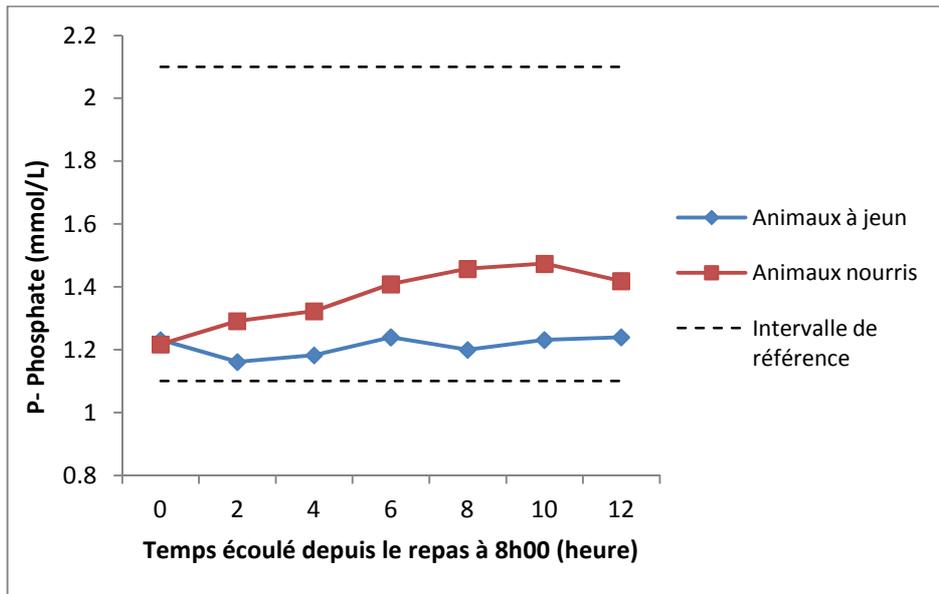
*Figure 20 : Evolution de la concentration moyenne de sodium en fonction du temps chez les chats à jeun depuis 12 heures et ceux nourris*

La concentration plasmatique de  $\text{CO}_2$  a été influencée de manière importante par l'interaction entre le statut (à jeun ou nourri) et le moment du prélèvement. En effet, la concentration de  $\text{CO}_2$  a globalement été plus élevée chez les chats nourris avec une concentration moyenne de 18 mmol/L alors qu'elle était de 17 mmol/L chez les animaux à jeun. La différence maximale entre ces concentrations moyennes obtenues au même moment, était de 5.4 mmol/L soit 31.2 % de la valeur moyenne à jeun et elle a été observée 2 heures après la prise de nourriture (Figure 21).



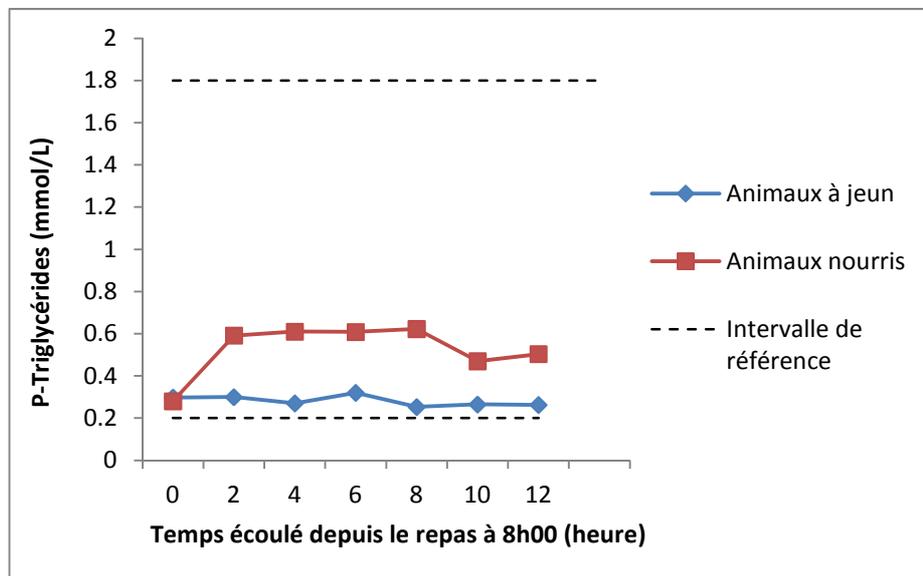
*Figure 21: Evolution de la concentration moyenne de  $\text{CO}_2$  en fonction du temps chez les chats à jeun depuis 12 heures et ceux nourris*

La concentration plasmatique moyenne de phosphates a été plus élevée chez les chats nourris, 0.53 mmol/L, que chez ceux restés à jeun, 0.28 mmol/L. Lorsqu'il a été étudié heure par heure, l'écart entre les concentrations plasmatiques moyennes de phosphate chez les chats à jeun et chez les chats nourris a atteint son niveau le plus élevé 8 heures après le repas et valait 0.26 mmol/L ce qui représente 21.7 % de la valeur à jeun à 16 heures (Figure 22).



*Figure 22: Evolution de la concentration moyenne de phosphate en fonction du temps chez les chats à jeun depuis 12 heures et ceux nourris*

En moyenne, la concentration plasmatique de triglycérides a été plus élevée chez les chats nourris, 1.37 mmol/L, que chez ceux restés à jeun, 1.21 mmol/L. L'écart entre les concentrations plasmatiques moyennes de triglycérides chez les chats à jeun et chez les chats nourris, étudié heure par heure, a atteint son niveau le plus élevé 8 heures après le repas et valait 0.37 mmol/L ce qui représente 148 % de la valeur à jeun à 16 heures (Figure 23).



*Figure 23: Evolution de la concentration moyenne de triglycérides en fonction du temps chez les chats à jeun depuis 12 heures et ceux nourris*

### 2.2.5. Etude 5 : Effet des cycles congélation/décongélation

Les concentrations d'urée, de créatinine, de sodium, de potassium, de chlore, de CO<sub>2</sub>, de calcium, de phosphate, et de PAL dans le plasma hépariné n'ont pas été significativement affectées par les cycles de congélation/décongélation. En revanche, les concentrations de glucose (p<0.001), de protéines totales (p<0.001), d'albumine (p=0.025) et d'activité de l'ALAT (p<0.001) ont montré des variations significatives. Les concentrations des analytes dans le plasma hépariné après un ou plusieurs cycle(s) de congélation/décongélation sont inscrites dans le tableau 25.

*Tableau 25: Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le plasma hépariné après un nombre variable de cycles de congélation/décongélation*

Analyte	Analyse immédiate	Cycles de congélation/décongélation			
		Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
Glucose (mmol/L)	4.3±0.3	4.3±0.3	4.4±0.3	4.5±0.3	4.5±0.3
Urée (mmol/L)	7.1±0.7	7.2±0.7	7.2±0.7	7.1±0.6	7.0±0.7
Créatinine (µmol/L)	106±24	104±22	106±24	106±23	106±23
Sodium (mmol/L)	158±2	157±2	158±2	157±2	157±3
Potassium (mmol/L)	3.5±0.2	3.5±0.2	3.6±0.2	3.6±0.2	3.6±0.2
Chlore (mmol/L)	124±2	124±2	124±2	124±1	124±1
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	18±1	18±1	17±1	17±1	17±1
Calcium (mmol/L)	2.41±0.06	2.43±0.06	2.42±0.08	2.42±0.07	2.43±0.07
Phosphate (mmol/L)	1.28±0.11	1.28±0.11	1.28±0.11	1.27±0.11	1.28±0.11
Protéines (g/L)	67±5	65±5	65±6	65±6	65±6
Albumine (g/L)	30.7±2.6	30.6±2.7	30.9±2.9	30.8±3.0	31.2±3.1
ALAT (U/L)	48±2	52±3	51±2	50±3	48±3
PAL (U/L)	27±9	27±8	26±9	26±8	26±8

Les valeurs surlignées sont celles présentant une différence significative avec la valeur de référence obtenue lors de l'analyse immédiate du plasma hépariné

Pour étudier l'effet des cycles de congélation/décongélation successifs, la différence entre les valeurs plasmatiques après 1, 2, 3 et 4 cycles de congélation/décongélation et la valeur lors de l'analyse immédiate a été calculée pour ces variables significativement modifiées par les cycles de congélation/décongélation dans le plasma hépariné (Tableau 26).

*Tableau 26 : Analyse de la différence entre les concentrations après 1, 2, 3 et 4 cycles de congélation/décongélation et la valeur de référence lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par les cycles de congélation/décongélation dans le plasma hépariné.*

		<b>Glucose (mmol/L)</b>	<b>Protéines (g/L)</b>	<b>Albumine (g/L)</b>	<b>ALAT (U/L)</b>
<b>Différence médiane (min ; max)</b>	<b>Cycle 1</b>	0.01 (-0.03 ; 0.04)	-2 (-2 ; 0)	0.0 (-0.4 ; 0.2)	5 (1 ; 6)
	<b>Cycle 2</b>	0.01 (-0.03 ; 0.12)	-2 (-2 ; 0)	0.4 (-0.8 ; 0.7)	4 (2 ; 6)
	<b>Cycle 3</b>	0.2 (0.1 ; 0.4)	-2 (-3 ; 0)	0.3 (-1 ; 0.7)	2 (-1 ; 6)
	<b>Cycle 4</b>	0.2 (0.1 ; 0.3)	-2 (-3 ; 0)	0.7 (-0.5 ; 1.1)	-1 (-1 ; 4)
	<b>IR</b>	<b>4.1-8.2</b>	<b>65-85</b>	<b>27-39</b>	<b>34-123</b>
<b>Pourcentage de variation de la valeur moyenne par rapport à la valeur moyenne de référence (%)</b>	<b>Cycle 1</b>	0.2	-1.9	-0.2	9.1
	<b>Cycle 2</b>	0.7	-1.9	0.8	7.7
	<b>Cycle 3</b>	4.7	-2.2	0.4	4.2
	<b>Cycle 4</b>	4.6	-2.6	1.6	1.1
	<b>Variabilité analytique</b>	0.03	0.55	0.81	1.66

Les valeurs surlignées sont celles pour lesquelles la médiane des différences est supérieure à la variabilité analytique  
IR= intervalle de référence

La concentration d'albumine n'a présenté que des variations non analytiquement significatives par rapport au spécimen de référence.

La différence entre les concentrations de glucose après 1, 2, 3 ou 4 cycles de congélation/décongélation et la valeur de référence est apparue comme analytiquement significative dès le troisième cycle.

La différence entre les concentrations de protéines après 1, 2, 3 ou 4 cycles de congélation/décongélation et la valeur de référence est apparue comme analytiquement significative dès le premier cycle.

L'activité de l'ALAT a présenté des variations analytiquement significatives par rapport à la valeur de référence après 1, 2 ou 3 cycles de congélation/décongélation. Lors du quatrième cycle, cette variation n'était plus analytiquement significative.

Les pourcentages de variation de la concentration moyenne des différents analytes dans le plasma hépariné par rapport au spécimen de référence en fonction du nombre de cycles de congélation/décongélation sont décrits dans le tableau 26.

Dans le sérum, le glucose, la créatinine, le potassium, le chlore, le CO<sub>2</sub>, et les protéines totales n'ont pas été statistiquement modifiés par les cycles congélation/décongélation. Les concentrations d'urée (p=0.040), de sodium (p=0.017), de calcium (p=0.004), de phosphate (p=0.0048), d'albumine (p=0.014), d'activité d'ALAT (p<0.001) et de PAL (p=0.0042) ont été significativement modifiées. Les concentrations des variables biochimiques dans le sérum après plusieurs cycles de congélation/décongélation sont inscrites dans le tableau 27.

*Tableau 27 : Concentration (moyenne±SD) des différents analytes dans le sérum après un nombre variable de cycles de congélation/décongélation*

Analyte	Cycles de congélation/décongélation				
	Analyse immédiate	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4
Glucose (mmol/L)	4.2±0.3	4.2±0.4	4.1±0.3	4.3±0.3	4.3±0.3
Urée (mmol/L)	7.2±0.6	7.1±0.6	7.1±0.7	7.2±0.7	7.1±0.7
Créatinine (µmol/L)	106±23	105±23	107±24	106±23	106±23
Sodium (mmol/L)	158±2	158±2	156±2	158±2	158±2
Potassium (mmol/L)	4.1±0.3	4.1±0.3	4.0±0.3	4.0±0.3	4.0±0.3
Chlore (mmol/L)	124±2	124±1	124±2	124±2	124±2
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	18±1	18±1	17±1	18±1	18±1
Calcium (mmol/L)	2.43±0.08	2.45±0.08	2.46±0.09	2.42±0.08	2.44±0.09
Phosphate (mmol/L)	1.35±0.11	1.35±0.11	1.36±0.11	1.35±0.11	1.36±0.11
Protéines (g/L)	66±5	65±5	66±5	66±5	65±5
Albumine (g/L)	31.7±3.2	31.5±3.3	31.2±3.0	31.0±2.9	31.2±3.1
ALAT (U/L)	56±2	58±3	58±3	55±2	54±2
PAL (U/L)	28±8	28±9	27±9	28±9	28±8

Les valeurs surlignées sont celles présentant une différence significative avec la valeur de référence obtenue lors de l'analyse immédiate du sérum.

Pour étudier l'effet des cycles de congélation/décongélation successifs, la différence entre les concentrations plasmatiques après 1, 2, 3 et 4 cycles de congélation/décongélation et la concentration lors de l'analyse immédiate a été calculée pour ces variables significativement modifiées par les cycles de congélation/décongélation dans le sérum (Tableau 28).

*Tableau 28 : Analyse de la différence entre les concentrations après 1, 2, 3 et 4 cycles de congélation/décongélation et la valeur de référence lors de l'analyse immédiate pour les variables influencées par les cycles de congélation/décongélation dans le sérum.*

		<b>Urée (mmol/L)</b>	<b>Sodium (mmol/L)</b>	<b>Calcium (mmol/L)</b>	<b>Phosphate (mmol/L)</b>	<b>Albumine (g/L)</b>	<b>ALAT (U/L)</b>	<b>PAL (U/L)</b>
<b>Différence médiane (min ; max)</b>	<b>Cycle 1</b>	-0.1 (-0.2 ; 0.1)	0 (-2 ; 1)	0.02 (0.01 ; 0.03)	0.01 (-0.01 ; 0.02)	-0.2 (-0.7 ; 0.1)	3 (0 ; 4)	0 (-3 ; -2)
	<b>Cycle 2</b>	-0.1 (-0.2 ; 0.0)	-2 (-3 ; 0)	0.035 (-0.01 ; 0.05)	0.02 (0.01 ; 0.03)	-0.5 (-1.2 ; 0)	3 (0 ; 3)	-1 (-4 ; 0)
	<b>Cycle 3</b>	-0.1 (0.2 ; 0.0)	0 (-1 ; 0)	-0.015 (-0.02 ; 0.02)	0.01 (-0.01 ; 0.03)	-0.7 (-1.6 ; 0.1)	0 (-3 ; 1)	0 (-2 ; 0)
	<b>Cycle 4</b>	-0.1 (-0.3 ; 0.0)	-1 (-1 ; 1)	0.005 (-0.02 ; 0.05)	0.01 (0 ; 0.04)	-0.3 (-1.4 ; 0)	-2 (-3 ; 1)	0 (-1 ; 1)
	<b>IR</b>	<b>4.1-8.2</b>	<b>153-161</b>	<b>2.4-2.9</b>	<b>1.1-2.1</b>	<b>27-39</b>	<b>34-123</b>	<b>32-147</b>
<b>Pourcentage de variation de la valeur moyenne par rapport à la valeur moyenne de référence (%)</b>	<b>Cycle 1</b>	-1.2	-0.2	0.8	0.6	-0.6	4.5	-0.6
	<b>Cycle 2</b>	-1.4	-1.1	1.2	1.4	-1.5	3.6	-5.9
	<b>Cycle 3</b>	-0.9	-0.1	-0.3	0.5	-2.2	-0.9	-1.8
	<b>Cycle 4</b>	-1.6	-0.2	0.5	1.1	-1.5	-3.6	0.0
	<b>Variabilité analytique</b>	0.20	1.53	0.04	0.01	0.83	1.94	1.20

Les valeurs surlignées sont celles pour lesquelles la médiane des différences est supérieure à la variabilité analytique  
IR= intervalle de référence

Les concentrations d'urée, de calcium, d'albumine et d'activité de PAL n'ont présenté que des variations non analytiquement significatives par rapport au spécimen de référence.

La différence entre les concentrations d'activité de l'ALAT après 1, 2, 3 ou 4 cycles de congélation/ décongélation et la valeur de référence est apparue comme analytiquement significative dès le premier cycle. Cependant cette différence n'est plus supérieure à la variabilité analytique après 3 cycles de congélation/décongélation.

Le sodium et le phosphate n'ont montré des variations analytiquement significatives qu'à partir du second cycle de congélation/décongélation.

Les pourcentages de variation de la concentration moyenne des différents analytes dans le sérum par rapport au spécimen de référence en fonction du nombre de cycles de congélation/décongélation sont décrits dans le tableau 28.

#### 2.2.6. Etude 6 : Effet d'une hémolyse d'importance variable

Cette manipulation avait pour but d'étudier l'effet de l'hémolyse, plus ou moins marquée, sur le dosage d'analytes biochimiques plasmatiques.

La difficulté représentée par cette manipulation était le fait que le cycle de congélation/décongélation du tube de sang total a engendré des concentrations d'hémoglobine libre inférieures à celles théoriques. D'autre part, la concentration

d'hémoglobine libre plasmatique dans le plasma hémolysé a été différente chez chacun des chats et par la suite, les mélanges effectués ont eu, eux aussi, une concentration d'hémoglobine libre différente d'un chat à l'autre.

Les concentrations plasmatiques d'hémoglobine mesurées dans chaque aliquot sont décrites dans le tableau 29.

*Tableau 29 : Concentration plasmatique d'hémoglobine libre (mmol/L) de chacun des aliquots*

CHAT	Pourcentage de plasma hémolysé (%)						
	0	2	5	9	16	29	100
A	0	0	0.0621	0.1242	0.1863	0.3105	0.9936
C	0	0.0621	0.0621	0.0621	0.1863	0.2484	0.9936
D	0	0.0621	0.1863	0.3105	0.8073	1.5525	3.3534
F	0	0.1242	0.1863	0.3105	0.5589	0.9936	3.105
G	0	0.1242	0.1863	0.3105	0.621	1.1799	3.5397
P	0.0621	0.1863	0.3105	0.621	1.0557	Non dosé	6.3963

Le spécimen de référence pour un chat (P) était légèrement hémolysé. Le spécimen avec 29 % de plasma hémolysé n'a pas été dosé, par erreur, pour ce même chat. Le spécimen contenant 2 % de plasma hémolysé pour le chat A n'a pas été inclus dans l'analyse statistique car le dosage n'a pas permis de détecter d'hémoglobine libre plasmatique. Enfin, les résultats des analyses des spécimens avec 5 % et 9 % de plasma hémolysé pour le chat C ont également été ôtés de l'analyse car leur concentration d'hémoglobine libre était similaire à celle dans le spécimen contenant 2 % de plasma hémolysé.

Les concentrations d'hémoglobine libre dans les aliquots ont présenté une forte variation inter-individuelle. Les valeurs obtenues pour le dosage de chacun des analytes en fonction de la concentration d'hémoglobine n'ont pas pu être comparées d'un animal à l'autre, en l'état.

Pour chaque chat, les valeurs ont donc été transformées par la formule suivante:  $Y = \log \frac{X_{Hb}}{X_0}$  avec  $X_{Hb}$ , la concentration de l'analyte dans l'aliquot contenant un pourcentage donné de plasma hémolysé et  $X_0$ , la concentration de l'analyte obtenue dans le spécimen non hémolysé.

Le modèle linéaire suivant a ensuite été appliqué à ces données transformées :  $Y_{i,j} = \mu + \alpha \text{hémoglobine}_i + \text{chat}_j + \varepsilon_{i,j}$  avec  $Y_{i,j}$  la valeur observée pour le chat  $j$  ( $j = 1$  à  $8$ ) avec la  $i^{\text{ème}}$  concentration d'hémoglobine,  $\mu$  la moyenne générale,  $\alpha$  représentant l'augmentation de  $Y_{i,j}$  obtenue lorsque la concentration d'hémoglobine plasmatique augmente de 1 mmol/L,  $\text{chat}_j$  représentant l'effet du chat.  $\varepsilon_{i,j}$  représente l'erreur du modèle.

Puis, l'effet attendu d'une concentration croissante d'hémoglobine dans le plasma sur les concentrations d'analytes biochimiques a été modélisé de la façon suivante : pour chacune

des variables, le coefficient  $\alpha$  dérivé du modèle précédent a été appliqué à des concentrations plasmatiques en hémoglobine libre croissantes, sur un intervalle équivalent à celui observé dans la manipulation (i.e. 0-1.6 mmol/L), avec un pas de 0.2 mmol/L. Une valeur estimée  $Y' = \log \frac{XHb}{X_0}$  a alors été obtenue pour chacune des variables, chaque chat, et chacune des concentrations d'hémoglobine fixée.

Enfin, pour chaque concentration théorique d'hémoglobine, la variation de la concentration de chaque analyte plasmatique a été exprimée comme un pourcentage de la valeur de référence en utilisant la transformation mathématique suivante :  $Z = \exp Y'^{-1}$  avec  $Z$  le pourcentage de variation de la concentration de l'analyte par rapport à la valeur de référence et  $Y'$  la valeur estimée de la concentration déterminée précédemment. Ce sont ces valeurs  $Z$  qui ont été analysées par la suite.

Les pourcentages de variation théoriques par rapport au spécimen de référence obtenus pour les différents analytes, en fonction de la concentration d'hémoglobine libre ont été convertis en unité biochimique. Ces variations sont présentées dans le tableau 30.

**Tableau 30 : Variations de l'analyte par rapport au spécimen de référence médiane [min ; max] en fonction de la concentration plasmatique d'hémoglobine**

P-Hb (mmol/L)	Glucose (mmol/L)	Urée (mmol/L)	Créatinine (µmol/L)	Sodium (mmol/L)	Potassium (mmol/L)	Chlore (mmol/L)	CO <sub>2</sub> (mmol/L)	Calcium (mmol/L)	Phosphate (mmol/L)	Protéines (g/L)	Albumine (g/L)	ALAT (U/L)	PAL (U/L)
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
0,2	0,12 [0,12;0,13]	0,09 [0,08;0,13]	-4,57 [-5,99;-3,55]	-0,28 [-0,29;-0,28]	0,08 [0,07;-0,09]	-0,27 [-0,28;-0,27]	-0,27 [-0,30;-0,27]	-0,03 [-0,03;-0,03]	0,05 [0,04-0,05]	5,53 [5,17-6,19]	3,41 [3,04-3,69]	4,41 [3,75-4,87]	-6,99 [-9,72;-4,74]
0,4	0,25 [0,24-0,27]	0,17 [0,16-0,20]	-8,95 [-11,73;-6,96]	-0,57 [-0,57;-0,56]	0,16 [0,15;-0,18]	-0,55 [-0,56;-0,54]	-0,54 [-0,59;-0,53]	-0,05 [-0,06;-0,05]	0,09 [0,08;0,11]	11,54 [10,79;12,90]	7,21 [6,43;7,79]	9,22 [7,85;10,21]	-12,33 [-17,14;-8,36]
0,6	0,38 [0,36;0,41]	0,26 [0,23-0,30]	-13,15 [-17,24;-10,22]	-0,85 [-0,86;-0,83]	0,25 [0,23;0,28]	-0,82 [-0,84;-0,82]	-0,81 [-0,88;-0,79]	-0,08 [-0,08;-0,08]	0,14 [0,13-0,17]	18,07 [16,89;20,19]	11,45 [10,21;12,38]	14,49 [12,34;16,04]	-16,4 [-22,79;-11,12]
0,8	0,52 [0,49-0,56]	0,35 [0,32;0,40]	-17,18 [22,51;-13,35]	-1,13 [-1,15;-1,11]	0,33 [0,31;0,37]	-1,1 [-1,11;-1,09]	-1,07 [-1,16;-1,04]	-0,11 [-0,11;-0,10]	0,2 [0,17;0,23]	25,15 [23,51;28,11]	15,18 [14,43;17,49]	20,25 [17,24;22,41]	-19,51 [-27,11;-13,22]
1	0,66 [0,62;0,71]	0,44 [0,40;0,50]	-21,03 [-27,57;-16,35]	-1,41 [-1,43;-1,39]	0,42 [0,39;0,47]	-1,37 [-1,39;-1,36]	-1,33 [-1,44;-1,29]	-0,13 [-0,14;-0,13]	0,25 [0,22;0,30]	32,84 [30,70;36,70]	21,45 [19,13;23,19]	26,55 [22,61;29,39]	-21,88 [-30,40;-14,83]
1,2	0,8 [0,76;0,86]	0,54 [0,48;0,60]	-24,73 [-32,41;-19,23]	-1,69 [-1,72;-1,66]	0,51 [0,47;0,57]	-1,64 [-1,67;-1,63]	-1,58 [-1,72;-1,54]	-0,16 [-0,16;-0,16]	0,31 [0,27;0,36]	41,19 [38,51;46,03]	27,33 [24,37;29,54]	33,46 [28,48;37,02]	-23,68 [-32,92;-16,06]
1,4	0,95 [0,89;1,02]	0,63 [0,56;0,71]	-28,27 [-37,06;-21,98]	-1,97 [-2,00;-1,94]	0,61 [0,55;0,67]	-1,91 [-1,94;-1,89]	-1,83 [-1,99;-1,78]	-0,18 [-0,19;-0,18]	0,37 [0,32;0,43]	50,25 [46,98;56,16]	33,88 [30,22;36,63]	41 [34,89;45,36]	-25,06 [-34,83;-16,99]
1,6	1,1 [1,04;1,18]	0,72 [0,65;0,81]	-31,67 [-41,51;-24,62]	-2,25 [-2,29;-2,22]	0,7 [0,64;0,78]	-2,18 [-2,22;-2,16]	-2,08 [-2,26;-2,02]	-0,21 [-0,21;-0,20]	0,43 [0,37;0,50]	60,09 [56,18;67,19]	41,19 [36,74;44,53]	49,25 [41,91;54,49]	-26,11 [-36,29;-17,70]
IR	4.1-8.2	6.6-11.3	89-207	153-161	3.3-4.2	120-127	15-21	2.4-2.9	1.1-2.1	65-85	27-39	34-123	32-147

Le sodium, le chlore et le calcium ont été affectés par l'hémolyse de manière négligeable et ont très légèrement diminué. Les autres analytes ont présenté des variations par rapport à la valeur de référence qui ont une importance clinique faible, modérée, ou haute. Ces variations sont présentées dans le tableau 31. Elles ont été analysées uniquement de manière qualitative.

*Tableau 31 : Biais lié à l'hémolyse sur le dosage des analytes biochimiques*

Analyte (unité)	Variation avec l'augmentation de l'hémolyse	Importance clinique	Concentration plasmatique d'hémoglobine minimale entraînant un changement d'intérêt clinique (mmol/L)	Médiane des écarts entre les concentrations dans les spécimens hémolysés et dans les spécimens de référence	IR	Pourcentage de l'amplitude de l'IR représenté par la médiane des écarts (%)
Sodium (mmol/L)	↓	négligeable	1.6	-2	153-161	25.0
Chlore (mmol/L)	↓	négligeable	1.6	-2	120-127	28.6
Calcium (mmol/L)	↓	négligeable	1.6	-0.21	2.4-2.9	40.0
Glucose (mmol/L)	↑	faible	1.6	1.1	4.1-8.2	26.8
Urée (mmol/L)	↑	faible	1.6	0.7	6.6-11.3	14.9
CO <sub>2</sub> (mmol/L)	↓	faible	1.2	-2	15-21	33.3
Créatinine (μmol/L)	↓	modérée	1.4	-28	89-207	23.7
Phosphate (mmol/L)	↑	modérée	1.4	0.37	1.1-2.1	40.0
ALAT (U/L)	↑	modérée	1.4	41	34-123	46.1
Potassium (mmol/L)	↑	modérée	1.0	0.4	3.3-4.2	44.4
PAL (U/L)	↓	haute	0.8	-20	32-147	17.4
Protéines (g/L)	↑	haute	0.4	12	65-85	60.0
Albumine (g/L)	↑	haute	0.4	7.2	27-39	58.3

Aucune modification n'a été visualisée jusqu'à ce que la concentration plasmatique d'hémoglobine ait atteint 0.4 mmol/L. Les concentrations plasmatiques de protéines totales et d'albumine ont ensuite été les plus affectées par l'hémolyse. Elles ont été augmentées par une hémolyse encore faible. La concentration plasmatique moyenne d'activité de la PAL a diminué de 20 U/L lorsque la concentration d'hémoglobine a atteint une valeur de 0.8 mmol/L. L'ALAT est une enzyme moins affectée, elle n'a présenté qu'une variation modérée de 41 U/L, soit 46.1 % de l'IR lorsque la concentration plasmatique d'hémoglobine a atteint 1.4 mmol/L.

Parmi les ions analysés, la kaliémie est la variable la plus influencée par l'hémolyse. Sa concentration a augmenté de 0.4 mmol/L quand la concentration plasmatique d'hémoglobine a atteint 1.0 mmol/L. La phosphatémie a subi une augmentation similaire pour une

concentration d'hémoglobine de 1.4 mmol/L. Les concentrations plasmatiques des autres ions, sodium, chlore, calcium, ont été peu modifiées par la présence d'hémolyse.

Enfin la concentration plasmatique de créatinine a diminué de manière modérée, de 28  $\mu\text{mol/L}$  soit 23.7 % de l'IR lorsque la concentration d'hémoglobine a atteint 1.4 mmol/L.

### 2.3. Discussion

L'étude présente a donc permis de mettre en évidence l'influence de différents facteurs pré-analytiques sur les principales variables biochimiques.

Une difficulté conséquente dans l'interprétation des résultats de ce travail consiste dans le choix d'un critère objectif afin de déterminer si une différence statistiquement significative est cliniquement importante.

L'utilisation des différences critiques prenant en compte les variabilités analytique, inter-individuelle et intra-individuelle a été proposée dans ce but chez le chien (Jensen et Aaes, 1993). Mais, à notre connaissance, aucune différence critique n'a été définie pour les variables biochimiques chez le chat.

Il a également été proposé de comparer la variation observée à la variabilité analytique. Si elle est moins grande que la variabilité analytique, son importance clinique sera négligeable (Jensen et coll., 1994 ; Jones, 2006 ; Reynolds et coll., 2012). Enfin, une autre méthode a été mentionnée dans plusieurs articles (Jacobsen et Jensen, 1998 ; Jensen et coll., 1994 ; Reynolds et coll., 2008b ; Reynolds et coll., 2012). Elle consiste à comparer la différence observée entre les méthodes de traitement des échantillons avec l'intervalle de référence de l'analyte concerné. Ces deux dernières méthodes ont été utilisées ici.

Une autre limite de cette étude est que le nombre d'animaux utilisés est relativement faible (6 à 11).

Par ailleurs, les modifications que cette étude a mises en évidence ne sont valables que chez le chat sain avec des valeurs de base des concentrations d'analytes biochimiques comprises dans l'intervalle de référence utilisé ici. Elles ne peuvent être étendues à des animaux malades ou des chats dont les valeurs sont situées hors de cet intervalle.

Dans les paragraphes suivants, l'importance clinique des modifications des variables biochimiques décrites précédemment est discutée et les résultats obtenus dans cette étude sont comparés avec ceux décrits par des articles antérieurs.

### 2.3.1. Effet du spécimen

L'effet des anticoagulants les plus couramment utilisés a été décrit dans cette étude expérimentale. L'héparinate de lithium a été utilisé comme anticoagulant de référence car il est le plus souvent recommandé en biologie clinique.

Lorsque les dosages des paramètres biochimiques ont été effectués dans le sérum, une augmentation légère mais significative des concentrations de potassium, de phosphate, d'albumine et de l'activité de l'ALAT a été observée. Dans cette étude, ces différences ont été considérées comme n'ayant aucune importance clinique. Le sérum est donc un spécimen qui peut être substitué au plasma hépariné pour le dosage d'analytes biochimiques sans risque important d'erreur d'interprétation.

L'augmentation de la concentration de potassium dans le sérum par rapport au plasma hépariné a déjà été notée chez l'homme (Narayanan, 2000), chez le chat et chez le chien (Aktas et coll., 1994 ; Gilor et Gilor, 2011 ; Landt et coll., 1994) avec une différence du même ordre de grandeur que dans cette étude soit 0.3-0.5 mmol/L. Elle pourrait être expliquée par une libération de potassium par les plaquettes au cours de la formation du caillot dans le tube sec (Gilor et Gilor, 2011 ; Gunn-Moore et coll., 2006).

Par ailleurs, une légère augmentation de la concentration d'albumine de 0.5 g/L dans le sérum par rapport au plasma hépariné a été observée ici chez le chat. Cependant, ces différences sont restées négligeables et n'ont eu aucun impact sur l'interprétation clinique de ces deux variables. Chez le chien, cette concentration a diminué de 0.6 g/L (Ceron et coll., 2004).

L'EDTA-K<sub>3</sub> employé dans cette étude étant un sel potassique, il a induit une augmentation marquée de la concentration plasmatique de potassium. Il a par ailleurs entraîné une diminution de la concentration de calcium car il chélate ce cation. Chez le chien, la concentration plasmatique de potassium a également augmenté lors de l'utilisation d'EDTA comme anticoagulant. Elle est passée de 4.4 mmol/L dans le sérum à 22.3 mmol/L dans le plasma EDTA (Ceron et coll., 2004). Ces deux ions ne peuvent donc pas être évalués convenablement à partir de ce type de spécimen (Ceron et coll., 2004 ; Gilor et Gilor, 2011 ; Kroll et Elin, 1994).

Chez le chat, l'activité de la PAL a baissé de 27 U/L dans le plasma hépariné à 11 U/L dans le plasma EDTA. Cette diminution entraîne un risque modéré dans l'analyse de l'activité de la PAL. Une diminution de 67 U/L a aussi été rapportée chez le chien (Ceron et coll., 2004 ; Kroll et Elin, 1994). La réduction de l'activité de la PAL pourrait être due à la chélation du calcium, cation divalent qui est une co-enzyme nécessaire au fonctionnement de nombreuses enzymes (Gilor et Gilor, 2011 ; Kaneko et coll., 1997).

Ces mêmes effets de l'EDTA sur les concentrations de calcium, de potassium, d'activité de la PAL ont aussi été rapportés chez l'homme (Ceron et coll., 2004).

Les différences notées sur les autres analytes biochimiques ont un intérêt clinique négligeable.

Enfin, le citrate, lui aussi, chélate le calcium et impacte donc la concentration de cet ion chez le chat.

La molécule utilisée étant du citrate de sodium, la concentration de sodium a augmenté de manière significative dans notre étude, chez le chat (elle est passée de 157.1 mmol/L dans le plasma hépariné à 177.3 mmol/L dans le plasma citraté). Le risque d'erreur lors de l'interprétation des concentrations de calcium et de sodium est donc inacceptable. Une augmentation similaire de la concentration de sodium a été observée chez le chien (de 146.1 mmol/L dans le plasma hépariné à 161.7 mmol/L dans le plasma citraté) (Ceron et coll., 2004).

Dans notre étude, chez le chat, la concentration de tous les analytes était inférieure dans le plasma citraté par rapport au plasma hépariné, sauf les concentrations d'albumine, de sodium et d'activité de l'ALAT qui étaient plus élevées dans le plasma citraté. Le risque d'une mauvaise interprétation clinique est jugé comme négligeable pour l'albumine, l'ALAT et la PAL lorsque le plasma citraté est employé à la place du plasma hépariné. Ce risque est important pour la concentration de créatinine, et celle de protéines totales. Enfin, la possibilité d'une mauvaise interprétation des analyses est considérée comme inacceptable pour le potassium et le CO<sub>2</sub>.

Une diminution globale de la concentration des analytes biochimiques a déjà été observée chez le chat comme chez le chien dans l'étude de Ceron et coll. (2004) lorsque le sérum a été remplacé par du plasma citraté. Mais dans cette dernière étude, les activités de l'ALAT et de la PAL n'ont pas été modifiées et la concentration d'albumine a été diminuée (Ceron et coll., 2004). La diminution de la concentration de nombreuses variables pourrait être due à un effet de dilution (Ceron et coll., 2004).

Le citrate de sodium ne constitue donc pas une alternative correcte lors du choix de l'anticoagulant pour effectuer des analyses biochimiques.

La signification clinique des variations des concentrations plasmatiques des différents analytes dosés à partir d'un spécimen de sang total conservé avec différents anticoagulants chez le chat est récapitulée dans le tableau 32.

*Tableau 32 : Biais lié au choix de l'anticoagulant sur le dosage des analytes biochimiques*

Analyte	Spécimen		
	Citrate	EDTA-K3	Sérum
Glucose	●	●	●
Urée	●	●	●
Créatinine	●	●	●
Sodium	●	●	●
Potassium	●	●	●
Chlore	●	●	●
CO <sub>2</sub>	●	●	●
Calcium	●	●	●
Phosphates	●	●	●
Protéines	●	●	●
Albumine	●	●	●
ALAT	●	●	●
PAL	●	●	●

● = biais négligeable ou absence de biais ; ● = biais modéré  
 ● = biais important ; ● = biais inacceptable ou spécimen inadapté

### 2.3.2. Effet de la congélation sur une longue durée

Pour la plupart des variables, les variations dues à la durée de stockage ont montré un intérêt clinique négligeable. Seules les concentrations de CO<sub>2</sub> total et d'activité de l'ALAT ont montré une différence cliniquement significative lors d'un stockage à -20°C.

Entre l'analyse immédiate et 1 mois de stockage à -20°C dans le sérum, ou entre 1 et 3 mois de stockage à -20°C dans le plasma hépariné, la concentration de CO<sub>2</sub> a diminué de manière cliniquement significative. Le risque d'une mauvaise interprétation est alors considéré comme important. Cette diminution de la concentration sérique et plasmatique de CO<sub>2</sub> s'est accentuée lorsque le stockage à -20°C a été prolongé et le risque de mauvaise interprétation est devenu inacceptable à partir de 6 mois de stockage (p<0.001) du sérum ou du plasma hépariné à -20°C. La concentration sérique de CO<sub>2</sub> a diminué de 29.0 % par rapport à la valeur de référence après 12 mois de stockage. Après 12 mois de stockage, la concentration plasmatique de CO<sub>2</sub> a diminué de 28.3 % de la valeur de référence.

Jusqu'à 6 mois de stockage, la concentration moyenne d'activité de l'ALAT a montré une diminution ayant un impact négligeable sur l'interprétation clinique du résultat. Cette concentration a montré une diminution cliniquement significative à partir d'un stockage de

12 mois à -20°C, que ce soit dans le plasma hépariné dans lequel la concentration d'ALAT a diminué de 54.1 % de la valeur de référence (p<0.001) ou dans le sérum dans lequel la concentration d'ALAT a diminué de 49.2 % de la valeur de référence (p<0.001). Dans les deux spécimens, le risque d'une erreur d'interprétation des résultats de dosage de l'activité de l'ALAT est alors modéré.

Cependant, compte tenu du fait que, dans cette expérience, les résultats obtenus 6 mois après le prélèvement sanguin étaient peu interprétables à cause du faible nombre de résultats, il est possible que l'activité de l'ALAT soit modifiée dès 6 mois de stockage.

Le tableau 33 résume l'importance clinique des modifications des différentes variables au cours d'un stockage à -20°C du sérum et du plasma hépariné.

*Tableau 33 : Biais lié à la durée de congélation à -20°C sur le dosage des analytes biochimiques dans le sérum (S) et le plasma hépariné (H)*

Analyte	Durée de congélation du spécimen							
	1 mois		3 mois		6 mois		12 mois	
	H	S	H	S	H	S	H	S
Glucose	●	●	●	●	●	●	●	●
Urée	●	●	●	●	●	●	●	●
Créatinine	●	●	●	●	●	●	●	●
Sodium	●	●	●	●	●	●	●	●
Potassium	●	●	●	●	●	●	●	●
Chlore	●	●	●	●	●	●	●	●
CO <sub>2</sub>	●	●	●	●	●	●	●	●
Calcium	●	●	●	●	●	●	●	●
Phosphates	●	●	●	●	●	●	●	●
Protéines	●	●	●	●	●	●	●	●
Albumine	●	●	●	●	●	●	●	●
ALAT	●	●	●	●	●	●	●	●
PAL	●	●	●	●	●	●	●	●

● = biais négligeable ou absence de biais ; ● = biais modéré  
 ● = biais important ; ● = biais inacceptable ou spécimen inadapté

Onze des treize analytes biochimiques étudiés dans notre expérimentation présentent une bonne stabilité lors de la congélation d'un spécimen de plasma hépariné ou de sérum. Cette stabilité des analytes biochimiques à -20°C a déjà été observée chez le chien pendant une durée de 8 mois dans le sérum et le plasma hépariné (Thoresen et coll., 1995). Dans cette dernière étude, seule la PAL a présenté une variation de 18 U/L dans le sérum et de 19.2 U/L

dans le plasma hépariné après 240 jours de stockage. Cette variation de la concentration moyenne d'activité de la PAL pourrait être considérée comme ayant un intérêt clinique modéré.

La congélation est donc un bon moyen de conservation d'un spécimen de plasma hépariné ou de sérum pendant une longue durée, sauf pour le CO<sub>2</sub>.

### *2.3.3. Effet du délai de centrifugation, de la durée et de la température de stockage des échantillons de plasma/sang total hépariné*

La conservation des spécimens sous forme de sang total a modifié un nombre de variables plus important que lorsque les spécimens ont été conservés sous forme de plasma.

Les résultats d'analyses sur des spécimens de sang total ou de plasma ont également présenté moins de modifications lorsque ceux-ci ont été réfrigérés que lorsqu'ils ont été laissés à température ambiante.

L'intérêt de la réfrigération des spécimens a déjà été rapporté chez les chiens, les chats (Burkhard et Meyer, 1995) ou chez l'homme (Ono et coll., 1981).

La conservation d'un spécimen de sang sous forme de sang total à température ambiante (20°C) entraîne des modifications cliniquement significatives de nombreux analytes : le glucose, le potassium, le chlore, le CO<sub>2</sub>, et le phosphate. Les concentrations de glucose et de CO<sub>2</sub> sont modifiées dès 6 heures de stockage, celles de potassium, de chlore et de phosphate dès 48 heures de stockage.

La diminution de la concentration de glucose a entraîné un risque modéré d'erreur d'interprétation à partir de 6 heures de stockage. Ce risque a ensuite augmenté.

La concentration de CO<sub>2</sub>, quant à elle, a diminué significativement dès 6 heures de stockage. L'amplitude de cette diminution a évolué de manière aléatoire. Le CO<sub>2</sub> est donc instable dans un spécimen de sang total conservé à 20°C.

Cette étude n'a donc pas permis de déterminer le délai maximal de centrifugation du sang total conservé à température ambiante pour éviter l'apparition de modifications des concentrations de glucose et de CO<sub>2</sub>.

L'amplitude des variations des différents analytes dosés à partir d'un spécimen de sang total hépariné conservé à température ambiante est résumée dans le tableau 34.

*Tableau 34 : Biais lié à la durée de stockage du sang total à 20° sur le dosage des analytes biochimiques*

Analyte	Durée du stockage du sang total à 20°C			
	6 heures	24 heures	48 heures	168 heures
Glucose	●	●	●	●
Urée	●	●	●	●
Créatinine	●	●	●	●
Sodium	●	●	●	●
Potassium	●	●	●	●
Chlore	●	●	●	●
CO <sub>2</sub>	●	●	●	●
Calcium	●	●	●	●
Phosphates	●	●	●	●
Protéines	●	●	●	●
Albumine	●	●	●	●
ALAT	●	●	●	●
PAL	●	●	●	●

● = biais négligeable ou absence de biais ; ● = biais modéré  
 ● = biais important ; ● = biais inacceptable ou spécimen inadapté

Lorsque le sang total a été réfrigéré, le nombre d’analytes biochimiques influencés par la durée du stockage est moins important. Si un échantillon de sang total a été réfrigéré immédiatement après son prélèvement, toutes les variables biochimiques peuvent être dosées et interprétées pendant au moins 7 jours sauf le glucose qui n’est stable que 24 heures et le potassium dont la concentration varie dès 6 heures de stockage.

Le tableau 35 résume l’importance clinique des variations présentées par les variables biochimiques lors du stockage de sang total hépariné à 4°C.

*Tableau 35 : Biais lié à la durée de stockage du sang total à 4°C sur le dosage des analytes biochimiques*

Analyte	Durée du stockage du sang total à 4°C			
	6 heures	24 heures	48 heures	168 heures
Glucose	●	●	●	●
Urée	●	●	●	●
Créatinine	●	●	●	●
Sodium	●	●	●	●
Potassium	●	●	●	●
Chlore	●	●	●	●
CO <sub>2</sub>	●	●	●	●
Calcium	●	●	●	●
Phosphates	●	●	●	●
Protéines	●	●	●	●
Albumine	●	●	●	●
ALAT	●	●	●	●
PAL	●	●	●	●

● = biais négligeable ou absence de biais ; ● = biais modéré  
 ● = biais important ; ● = biais inacceptable ou spécimen inadapté

Un spécimen de plasma hépariné réfrigéré peut être utilisé sans risque d'erreur d'interprétation jusqu'à 48 heures. Il reste analysable pour la plupart des variables biochimiques pour une durée d'au moins 7 jours. Seul le sodium présente un risque modéré d'erreur d'interprétation à partir de 7 jours de stockage. C'est le plasma réfrigéré qui offre la meilleure stabilité des analytes. Si le plasma hépariné est conservé à température ambiante, la concentration plasmatique des analytes est peu modifiée après 7 jours de stockage. Le spécimen de plasma reste analysable sans risque d'erreur d'interprétation pour les 13 variables biochimiques étudiées pendant 6 heures. Par la suite la majorité des analytes restent stables à l'exception du sodium pour lequel un risque modéré d'erreur d'interprétation apparaît.

La concentration de glucose, dans cette étude, a été particulièrement modifiée par la durée de stockage du sang total à température ambiante. Ceci correspond à ce qui avait déjà été mis en évidence pour le chien (Burkhard et Meyer, 1995 ; Fontaine et coll., 1986) et pour le chat (Burkhard et Meyer, 1995 ; Fontaine et coll., 1987). Chez l'homme, ces variations ont été observées dans le sérum dès 4 heures de stockage du sang sur tube sec à température ambiante (Ono et coll., 1981). Ces modifications pourraient être expliquées par une consommation du glucose par les cellules sanguines laissées en contact avec le plasma ou le sérum.

Le potassium est lui aussi un analyte dont la concentration a été augmentée par le stockage de sang total à température ambiante. Sa concentration a présenté une augmentation dès 48 heures de stockage dans cette étude. Ces modifications ont été précédemment rapportées chez le chat (Fontaine et coll., 1987), ou encore chez le chien (Fontaine et coll., 1986) et chez l'homme (Ono et coll., 1981). Lorsque le sang total a été stocké à 4°C, la concentration de potassium a augmenté plus précocement, et de façon plus importante. C'est également le cas chez l'homme pour du sang collecté sur tube sec. L'inhibition de la pompe sodium/potassium ATPase dépendante provoquant une sortie du potassium des cellules pourrait expliquer ces modifications (Narayanan, 2000 ; Ono et coll., 1981).

Dès 48 heures de stockage du sang total à 20°C, une augmentation cliniquement significative de la concentration de phosphate a été notée. La variation de la phosphatémie dans le sang conservé à 20°C avait déjà été notée chez l'homme (Narayanan, 2000 ; Ono et coll., 1981), chez le chien (Fontaine et coll., 1986) et chez le chat (Fontaine et coll., 1987).

Une diminution de la concentration de chlore a été observée chez le chat dès 48 heures de stockage du sang total à 20°C. Cet électrolyte a été décrit comme relativement stable dans les études précédentes chez le chat et chez le chien (Fontaine et coll., 1986 ; Fontaine et coll., 1987). Chez l'homme, une diminution de la concentration sérique de chlore a été montrée après 1 jour de stockage du sang total à température ambiante. Cette diminution a atteint 10% de la concentration initiale après 7 jours de stockage (Heins et coll., 1995).

En résumé, dans notre étude, chez le chat, le sang total conservé à température ambiante est le spécimen présentant le plus de modifications avec l'augmentation de la durée du stockage. Les premières modifications cliniquement importantes, dans cette étude, sont apparues dès 6 heures de stockage pour le glucose et le CO<sub>2</sub>, et dès 48 heures pour le potassium, le chlore et le phosphate.

Lorsque le sang total est réfrigéré à 4°C, la concentration de potassium est modifiée entre la collecte et 6 heures de stockage. La concentration de glucose, quant à elle, n'est modifiée qu'entre 24 et 48 heures de stockage. Tous les autres paramètres biochimiques peuvent être dosés dans ce type de spécimen jusqu'à 7 jours après la collecte.

Un spécimen de plasma conservé à température ambiante ou à 4°C permet de doser tous les analytes jusqu'à 7 jours après la collecte sauf le sodium. La concentration plasmatique de sodium est modifiée dès 6 à 24 heures après la collecte dans le plasma conservé à température ambiante et dès 48 heures à 7 jours après la collecte dans le plasma conservé à 4°C.

#### 2.3.4. Variations circadiennes et effet du repas

Au cours du protocole mis en place pour cette expérimentation, les échantillons de plasma ont été réfrigérés puis ont subi un cycle de congélation/décongélation avant d'être analysés. Mais les résultats des expérimentations précédentes de cette étude (effet du délai de centrifugation, de la température et de la durée de stockage, et effet des cycles de congélation/décongélation) montrent que les délais entre la congélation et l'analyse des spécimens lors de cette expérimentation et l'application d'un cycle de congélation/décongélation n'ont qu'une influence négligeable sur les résultats de dosage des analytes biochimiques étudiés ici.

Parmi les 9 variables présentant des variations circadiennes chez les chats à jeun, seules 3 ont montré des variations ayant une importance clinique : l'urée, le CO<sub>2</sub> et la créatinine. Les 6 autres variables n'ont présenté que des modifications ayant une influence négligeable sur l'analyse des résultats.

Le risque d'erreur lors de l'interprétation de résultats de dosage de l'urée reste modéré. Pour le CO<sub>2</sub>, le risque de mauvaise interprétation également est considéré comme modéré.

Enfin, le risque est plus important pour la créatinine.

Pour ces analytes biochimiques, il peut donc être important de tenir compte de l'heure de prélèvement pour interpréter les résultats obtenus.

Chez l'homme, le glucose et le potassium présentent des variations circadiennes (Narayanan, 2000 ; Young et Bermes, 1986).

La consommation d'un repas peut également induire des modifications dans les résultats de l'analyse. Ici, 7 (le glucose, l'urée, la créatinine, le sodium, le CO<sub>2</sub>, le phosphate, et les triglycérides) des 15 analytes étudiés ont été influencés par la prise du repas.

Les variations de la concentration de glucose suite à la prise d'un repas n'ont qu'une importance clinique négligeable.

La concentration d'urée est plus importante chez les chats nourris que chez ceux laissés à jeun. Cette différence augmente avec le temps, après la prise du repas. Au contraire, la concentration de créatinine est plus basse chez les chats ayant reçu un repas que chez ceux laissés à jeun, et ce même si la concentration de créatinine augmente après la prise du repas. Les variations de la concentration d'urée suite à la prise d'un repas ont une signification clinique et notamment, 8 heures après le repas, l'écart entre les valeurs moyennes chez les chats nourris et les chats à jeun engendre un risque important d'erreur d'interprétation. Ce risque est également important pour les concentrations de créatinine et de sodium respectivement 10 heures et 2 heures après le repas.

L'écart maximal entre les concentrations moyennes de CO<sub>2</sub> chez les chats nourris et chez les chats à jeun a lieu 2 heures après la prise du repas et a entraîné un risque inacceptable d'erreur d'interprétation.

Enfin, l'écart maximal entre les concentrations moyennes de phosphate et triglycérides chez les chats nourris et chez les chats à jeun a lieu 8 heures après la prise du repas et a entraîné un risque modéré d'erreur d'interprétation.

Les modifications de la concentration de créatinine observées diffèrent de celles rapportées dans les études précédentes. Ces études avaient montré une augmentation des concentrations de créatinine chez le chien pendant une durée de 10 à 12 heures suivant le repas, et notamment si le repas est riche en viande (Braun et coll., 2003 ; Braun et Lefebvre, 2005 ; Gilor et Gilor, 2011 ; Watson et coll., 1981). Cette augmentation de la concentration sanguine de créatinine chez le chien, suite à l'ingestion d'un repas, est due à l'absorption de la créatinine d'origine alimentaire. Cependant, chez le chien, lors de l'ingestion de nourriture commerciale, dont le contenu en créatinine et créatine était inconnu, selon les études, une augmentation, une diminution ou une stabilité de la concentration plasmatique de créatinine ont été observées (Braun et coll., 2003, Watson et coll., 1981).

La diminution de la concentration plasmatique de créatinine chez les chats ayant reçu un repas par rapport à ceux maintenus à jeun pourrait être expliquée par une augmentation de l'excrétion urinaire de la créatinine (O'Connor et Summerill, 1976a). En effet, la consommation d'un repas riche en protéines engendre une vasodilatation des artérioles rénales et une augmentation de 30 à 60 % du DFG chez l'homme et chez le chien (O'Connor et Summerill, 1976a ; Simon et coll., 1998 ; Woods, 1993). Les acides aminés sont filtrés puis réabsorbés au niveau du tubule proximal. Cette réabsorption a lieu conjointement aux ions sodium et chlore. Par conséquent, l'augmentation de la filtration d'acides aminés entraînerait une diminution de la concentration de sodium et de chlore au niveau du tubule distal et serait à l'origine d'un « rétrocontrôle tubuloglomérulaire » et d'une vasodilatation de l'artériole rénale afférente (Woods, 1993).

Une augmentation de 38 % de la concentration d'urée a été observée dans cette étude, 8 heures après la consommation d'un repas.

D'après O'Connor et Summerill (1976b), chez le chien, l'excrétion d'urée augmente d'environ 200 % après un repas de viande, avec un pic d'excrétion apparaissant 4 à 6 heures après le repas. Malgré cette augmentation de l'excrétion, la concentration plasmatique d'urée augmente de 60 % suite au repas. Ceci pourrait être dû au fait que l'urée est produite en quantité plus importante après le repas de viande et que l'augmentation de l'excrétion ne compense pas cette hausse de la production (O'Connor et Summerill, 1976b).

Notre étude n'a rapporté aucune influence significative de la prise de nourriture sur la glycémie, et ce malgré un taux de glucides représentant plus de 30 % de l'énergie

métabolisable apportée par l'aliment et une durée de jeûne similaire à celles couramment utilisées. Dans une autre étude, la concentration sérique de glucose a augmenté 2 à 4 heures après le repas chez le chien et le chat (Bartges et Osborne, 1995). Un pic post-prandial de glycémie apparaissant 2 à 6 heures après la prise du repas a également été observé dans d'autres études chez le chat (Hewson-Hughes et coll., 2011 ; Farrow et coll., 2012). En revanche, l'étude menée par Martin et Rand (1999) n'a montré aucune modification significative de la glycémie chez le chat au cours des 2 heures suivant le repas. L'absence de variation de la glycémie observée par Martin et Rand (1999) et dans notre étude pourrait être due à un taux de protéines plus important dans le repas utilisé lors de ces expérimentations (35 % de la matière sèche et 38.8 % de l'énergie métabolisable apportée par l'aliment) par rapport à celui employé par Farrow et coll. (2012) (36 % de la matière sèche et 29 % de l'énergie métabolisable de l'aliment). En effet un régime plus riche en protéine stimulerait la sécrétion d'insuline et ferait ainsi diminuer la glycémie (Bartges et Osborne, 1995 ; Burkhard et Meyer, 1995 ; Martin et Rand, 1999). Une autre explication avancée par Martin et Rand (1999) est la faible capacité d'absorption des glucides dans l'intestin grêle chez les chats car l'intestin grêle est court. D'autre part, la digestibilité des glucides semble diminuer chez le chat lorsque la quantité de protéines ingérée au cours du repas augmente (Martin et Rand, 1999).

Chez le chat, la concentration plasmatique de calcium n'a pas été influencée par l'interaction entre le repas et le moment de prélèvement. En revanche, la prise de nourriture a entraîné une augmentation de la concentration plasmatique de phosphate. Chez l'homme, le calcium ionisé, le calcium total, et le phosphate ont montré des variations au cours de la journée (Markowitz et coll., 1984) et la concentration sanguine de phosphate augmente lors de l'ingestion d'un repas riche en protéines (Young et Bermes, 1986). La concentration sérique de calcium a montré un pic au cours de la journée chez les adolescents masculins vers 11 heures et un minimum vers 15h30. La concentration de calcium total a atteint deux pics à 1 heure et 11 heures et deux minima à 5 heures et 18 heures (Markowitz et coll., 1984) et la concentration de phosphate dans le sérum a atteint deux maxima à 3h30 et 16 heures (Markowitz et coll., 1984). Dans l'étude menée, les patients ont cependant reçu 3 repas à 8h30, 12h30 et 17h30. Il est donc difficile de déterminer précisément l'effet d'un repas.

Dans notre étude, les activités des enzymes PAL et ALAT n'ont pas été modifiées par la prise de nourriture. Chez l'homme, en revanche, les activités de la PAL et de l'ALAT ont été impactées par le repas. L'activité sérique de l'ALAT augmente 2 heures après le repas (Young et Bermes, 1986). L'activité de la PAL est, elle aussi, augmentée suite à la circulation d'isoenzymes intestinales (Young et Bermes, 1986). Mais chez le chien et le chat, la demi-vie de cette isoenzyme étant très courte, elle n'influencerait pas l'activité globale de la PAL (Bartges et Osborne, 1995).

Dans notre étude, la concentration de triglycérides a augmenté suite à la prise d'un repas. Ces modifications sont à l'origine d'un biais modéré lors de l'interprétation de cette concentration. Le cholestérol, en revanche, n'a montré aucune modification cliniquement significative suite à la prise d'un repas.

Il a été montré que l'effet de la prise de nourriture dépend de la composition du repas.

S'il s'agit d'un repas très riche en graisse, chez le chat ou le chien, les concentrations de triglycérides et de cholestérol augmentent dans le sérum tandis que celle d'urée diminue (Bartges et Osborne, 1995). Chez l'homme, la concentration de triglycérides augmente également et cette élévation peut persister jusqu'à 9 heures après un repas riche en graisses (Narayanan, 1996). Le cholestérol en revanche semble peu affecté par ce type de repas chez l'homme (Narayanan, 1996). Un repas riche en graisse va, d'autre part, faire augmenter la lipémie. Celle-ci peut perdurer 12 heures après la prise de nourriture chez le chien ou le chat (Allen et Toll, 1995). En augmentant la turbidité du sérum ou du plasma, la lipémie peut interférer avec des techniques de dosage (ex : la réfractométrie pour la détermination de la concentration de protéines totales, la méthode colorimétrique enzymatique avec l'hexokinase pour la détermination de la glycémie) (Kroll et Elin, 1994).

Un repas riche en glucides induit une augmentation de la concentration sérique de glucose chez le chat et le chien (Bartges et Osborne, 1995 ; Farrow et coll., 2012 ; Gilor et Gilor, 2011 ; Hewson-Hughes et coll., 2011) mais fait diminuer celle de phosphore (Bartges et Osborne, 1995 ; Gilor et Gilor, 2011) car celui-ci est utilisé par la cellule pour la phosphorylation des enzymes glycolytiques. Chez le chat et le chien, le repas stimule également la sécrétion d'insuline et fait entrer le potassium dans les cellules et sortir le sodium. La concentration de sodium augmente tandis que celle de potassium diminue (Bartges et Osborne, 1995 ; Gilor et Gilor, 2011). Ce type de repas diminue la concentration de triglycérides et cholestérol dans le sérum (Bartges et Osborne, 1995).

Enfin, un repas riche en protéines engendre une hausse des concentrations d'urée et de phosphore dans le sérum et d'ammoniaque dans le plasma. Ce même repas stimule la sécrétion d'insuline et fait alors diminuer la concentration sérique en glucose. La consommation de grandes quantités de viande induit une augmentation de la créatinine dans le sérum des chats et des chiens (Bartges et Osborne, 1995 ; Burkhard et Meyer, 1995 ; Watson et coll., 1981). A l'inverse, un régime pauvre en protéines, pendant une période prolongée, peut entraîner une baisse de la concentration sérique d'albumine et d'urée et une hausse des activités sériques de PAL et d'ALAT (Burkhard et Meyer, 1995).

L'effet rapporté ici résulte d'un repas représentant 100 % des besoins journaliers des chats consommé en une seule fois ce qui n'est pas toujours le cas. Dans l'étude menée par Farrow et coll. (2012), par exemple, les chats ne reçoivent, en tant que repas, que la quantité ingérée habituellement pendant 12 heures. Dans cette dernière étude, une augmentation de la

glycémie au dessus de la valeur de base pendant 12.2 heures a été montrée. Cette augmentation vaut jusqu'à 44 % de la valeur de base. La variation de la composition du repas et de son mode de distribution peut constituer une limite lors de la comparaison des résultats entre les études.

#### 2.3.5. *Effet des cycles de congélation/décongélation*

Chez le chat, les concentrations plasmatiques (hépariné) de protéines totales, de glucose et d'albumine et les concentrations sériques d'albumine, d'urée, de phosphate et d'ALAT sont significativement modifiées par les cycles de congélation/décongélation. Cependant, ces modifications n'ont pas de pertinence clinique. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus chez le chien dans le plasma hépariné (Reynolds et coll., 2006) avec des variations dont l'importance clinique a été considérée comme négligeable. La température de stockage et la durée du stockage sont donc des facteurs qui semblent avoir plus d'influence que la réalisation de cycles congélation/décongélation sur une période courte.

#### 2.3.6. *Effet d'une hémolyse plus ou moins marquée*

L'hémolyse est une des sources d'erreurs pré-analytiques les plus fréquentes. Elle est à l'origine du rejet de 60 % des échantillons chez l'homme (Koseoglu et coll., 2011). Une difficulté supplémentaire représentée par ce facteur pré-analytique est que l'hémolyse d'un spécimen ne sera visible que lorsque le sang sera centrifugé donc parfois seulement à l'arrivée au laboratoire. En cas de refus de l'échantillon de sang, il ne sera alors pas toujours possible de réaliser un nouveau prélèvement.

L'hémolyse se produit le plus souvent *in vitro* (Koseoglu et coll., 2011) et interagit avec les variables selon 3 mécanismes (Burkhard et Meyer, 1995 ; Gilor et Gilor, 2011 ; Médaille et coll., 2005) :

- Influence directe sur l'absorbance déterminée par spectrophotométrie
- Altération du pH des réactions enzymatiques
- Si elle est importante, effet de dilution pour les constituants moins concentrés dans les érythrocytes que dans le plasma.

L'hémolyse modifie de façon différente le résultat du dosage des analytes en fonction de la méthode de dosage utilisée.

Dans cette étude, les concentrations de protéines totales et d'albumine ont été les variables les plus influencées par l'hémolyse. Leur concentration plasmatique a augmenté de manière cliniquement significative dès que la concentration d'hémoglobine a atteint 0.4 mmol/L. Cette augmentation a une signification clinique importante. Une augmentation de la

concentration de protéines totales avait déjà été rapportée chez l'homme pour une concentration d'hémoglobine équivalente (Sonntag, 1986). Elle est passée de 71.0 g/L à 76.0 g/L, cette variation est donc plus faible que celle observée ici avec une médiane des écarts de 12 g/L. Chez le chien également, une augmentation des protéines totales a été notée, mais elle variait en fonction de la méthode de dosage utilisée (O'Neill et coll., 1989). Cette différence est allée de 6 g/L à 23 g/L avec une concentration d'hémoglobine de 0.5 mmol/L et a augmenté ensuite jusqu'à une valeur comprise entre 19 g/L et 52 g/L lorsque la concentration d'hémoglobine était de 1 mmol/L. Ces variations pourraient être expliquées par le fait que des protéines sont contenues dans le cytoplasme des érythrocytes. D'autres études chez l'homme, en revanche, ont montré que la concentration de protéines totales n'était pas modifiée par l'hémolyse. Cependant, les concentrations en hémoglobine employées étaient beaucoup plus faibles (Koseoglu et coll., 2011 ; Yücel et Dalva, 1992).

Chez l'homme, l'albumine n'a pas présenté de variation significative avec l'augmentation de l'hémolyse. Mais, l'hémoglobinémie la plus importante apparaissant dans ces études est de 0.4 mmol/L (Koseoglu et coll., 2011 ; Sonntag, 1986 ; Yücel et Dalva, 1992). Chez le chien, lorsque l'hémoglobinémie était de 0.5 mmol/L, l'albumine a montré un accroissement compris entre 3 g/L et 6 g/L. Cette augmentation valait 12 g/L à 17 g/L lorsque la concentration d'hémoglobine a atteint 1.6 mmol/L (O'Neill et coll., 1989).

L'activité de la PAL a également diminué de manière non négligeable lors d'hémolyse dans cette étude : une baisse de l'activité de la PAL ayant une signification biologique importante a été notée à partir d'une concentration d'hémoglobine de 0.8 mmol/L. Cette diminution a été rapportée auparavant chez l'homme (Sonntag, 1986 ; Yücel et Dalva, 1992) pour des valeurs d'hémoglobinémie plus faible, de l'ordre de 0.1 mmol/L. Cependant, certaines études ont montré que l'activité de la PAL ne variait pas de manière significative (Koseoglu et coll., 2011). Chez l'homme, la diminution de l'activité de la PAL résulterait d'une chélation par le zinc contenu en grande quantité dans les globules rouges et libéré lors de l'hémolyse (Sonntag, 1986).

Au cours de cette étude, l'activité de l'ALAT a augmenté pour une hémoglobinémie atteignant 1.4 mmol/L. Cette augmentation a une signification clinique modérée. Une hausse similaire a déjà été notée chez l'homme (Gilor et Gilor, 2011 ; Koseoglu et coll., 2011 ; Sonntag, 1986) pour des valeurs d'hémoglobinémie de 0.2 mmol/L. Elle pourrait être expliquée par une concentration importante de cette enzyme dans les érythrocytes. Dans une autre étude, l'activité de l'ALAT n'a pas été modifiée par l'hémolyse (Yücel et Dalva, 1992), mais l'hémoglobinémie était alors beaucoup plus faible.

Le potassium a présenté ici une augmentation ayant une importance clinique modérée avec l'hémolyse. Si, chez l'homme, cette hausse est connue (Frank et coll., 1978 ; Koseoglu et coll., 2011 ; Kroll et Elin, 1994 ; Sonntag, 1986 ; Young et Bermes, 1986 ; Yücel et Dalva, 1992), chez la plupart des races de chien et chez les chats, il est habituellement rapporté que

l'hémolyse n'affecte pas la concentration de potassium car sa concentration est identique dans les érythrocytes et dans le plasma (Bernardini et coll., 2009 ; Gilor et Gilor, 2011 ; O'Neill et coll., 1989). Seuls les chiens de race japonaise (Akita Inu, ...) ont une concentration intracellulaire en potassium plus élevée, et chez ces animaux l'hémolyse peut avoir une influence sur la concentration de potassium (Bernardini et coll., 2009).

La phosphatémie est également influencée par une hémoglobinémie de 1.4 mmol/L chez le chat et cette hausse de la phosphatémie entraîne un risque modéré d'erreur d'interprétation. Cet effet a été décrit chez l'homme (Koseoglu et coll., 2011 ; Sonntag, 1986 ; Young et Bermes, 1986 ; Yücel et Dalva, 1992) à partir d'une hémolyse jugée alors comme importante. Cette augmentation pourrait être expliquée, chez l'homme, par une hydrolyse des esters de phosphate contenus dans les globules rouges par la phosphatase sérique (Young et Bermes, 1986 ; Yücel et Dalva, 1992). Cette explication a été reprise chez le chien (O'Neill et coll., 1989) pour expliquer, là aussi, l'augmentation observée (Gilor et Gilor, 2011). Une autre explication serait la libération de phosphate à partir des phospholipides membranaires des globules rouges (Gilor et Gilor, 2011).

Enfin, la concentration de créatinine tend à diminuer avec l'hémolyse chez le chat. Cette baisse provoque un risque modéré d'erreur d'interprétation lors de l'analyse de la concentration de créatinine. A l'inverse, chez l'homme ou le chien, une augmentation de la concentration de créatinine avait été précédemment décrite (Payriere et coll., 1991 ; Yücel et Dalva, 1992). Cependant, l'interférence de l'hémolyse avec le dosage de la créatinine varie selon la méthode de dosage employée : la méthode de Jaffé est plus sensible à l'interaction avec l'hémoglobine que la méthode enzymatique (Braun et coll., 2003).

Les autres variables n'ont pas été modifiées de façon majeure par l'hémolyse, comme rapporté précédemment chez l'homme et le chien (Koseoglu et coll., 2011 ; O'Neill et coll., 1989 ; Sonntag, 1986 ; Yücel et Dalva, 1992).

## CONCLUSION

Notre étude expérimentale avait pour but d'évaluer l'influence de différents facteurs pré-analytiques sur le résultat d'analyses biochimiques chez le chat.

Nous avons démontré dans cette étude que le choix du type de spécimen utilisé (plasma citraté, plasma hépariné, plasma EDTA-K<sup>3</sup>, sérum), de l'heure de prélèvement chez le chat à jeun ou du délai écoulé depuis le dernier repas ont une influence sur de nombreuses variables biochimiques.

L'hémolyse perturbe également le dosage de nombreux paramètres.

Le temps écoulé entre la collecte du spécimen de sang total et sa centrifugation, ainsi que la température de stockage du sang total ou du plasma sont également à l'origine de modifications majeures des résultats d'analyses biochimiques. Les concentrations plasmatiques de nombreuses variables biochimiques, à l'exception du potassium et du glucose, sont stables lorsque le sang total a été réfrigéré pendant un laps de temps pouvant atteindre 7 jours. La centrifugation rapide d'un spécimen de sang total et la séparation du plasma, suivies ou non de la réfrigération de ce dernier permettent également une meilleure stabilité des concentrations des variables biochimiques : dans ces conditions, les concentrations de tous les analytes sont stables pendant au moins 7 jours sauf celle du sodium.

D'autres facteurs tels que l'application de cycles de congélation/décongélation à un spécimen de plasma hépariné ou de sérum sur une courte durée, ou la conservation à long terme d'un spécimen de plasma ou de sérum à -20°C influencent peu les résultats de dosage des analytes biochimiques.

Cette étude a permis d'améliorer les connaissances sur l'influence des facteurs pré-analytiques chez le chat.

Dans le milieu de la recherche, le contrôle et la standardisation des conditions pré-analytiques sont un objectif difficile à atteindre et certains aléas peuvent persister. Ceci est d'autant plus vrai en pratique clinique libérale. Dans ce contexte, interviennent, en effet, des contraintes d'horaires de rendez-vous, et la prise en charge d'urgences ne permet pas le contrôle complet des facteurs pré-analytiques.

Cette étude doit permettre d'améliorer l'interprétation des résultats d'analyses biochimiques obtenus chez le chat, et de déterminer si les variations de concentrations observées peuvent être dues à l'influence d'un ou plusieurs facteur(s) pré-analytique(s) ou si elles présentent une signification clinique.

D'autre part, en pratique clinique, cette étude aidera à décider si des analyses complémentaires peuvent être réalisées à partir d'un spécimen déjà existant dont les conditions de collecte et de conservation sont connues.

Néanmoins, l'étude menée ici porte sur des animaux sains dont les valeurs biochimiques de base sont situées dans les intervalles de référence. Ces résultats ne peuvent donc pas être étendus à des animaux dont les valeurs de base seraient en dehors des valeurs usuelles. D'autres expérimentations portant sur une population plus importante de chats incluant, par exemple, des chats malades seraient nécessaires pour approfondir l'influence de ces facteurs pré-analytiques.

Enfin, actuellement, si le pourcentage d'analyses menant à une erreur en médecine vétérinaire diminue, le taux d'erreurs pré-analytiques, lui, augmente. La prise en compte de l'influence des facteurs pré-analytiques dans l'interprétation des résultats d'analyse biochimiques doit donc rester une préoccupation majeure afin d'améliorer encore la fiabilité de ces analyses.

## BIBLIOGRAPHIE

AKTAS M, AUGUSTE D, et CONCORDET D (1994). Creatine kinase in dog plasma: preanalytical factors of variation, reference values and diagnostic significance. *Research in Veterinary Science*, **56**, 30-36.

ALLEN T et TOLL P (1995). Medical implication of fasting and starvation. *In Kirk's Current Veterinary Therapy XII*. Philadelphie : Saunders, p 53-59.

BARTGES J et OSBORNE C (1995). Influence of fasting and eating on laboratory values. *In Kirk's Current Veterinary Therapy XII*. Philadelphie : Saunders, p 20-23.

BERNARDINI D, GERARDI G, CONTIERO B et coll (2009). Interference of haemolysis and hyperproteinemia on sodium, potassium, and chloride measurement in canine serum sample. *Veterinary Research Communications*, **33**, S173-S176.

BONINI P, PLEBANI M, CERIOTTI F et coll (2002). Errors in laboratory medicine. *Clinical Chemistry*, **48**, 691-698.

BRAUN J-P, LEFEBVRE H, et WATSON A (2003). Creatinine in the dog: A Review. *Veterinary Clinical Pathology*, **32**, 162-179.

BRAUN J-P et LEFEBVRE H (2005). Early detection of renal disease in the canine patient. *European Journal of Companion Animal Practice*, **15**, 59-64.

BURKHARD M.J. et MEYER D (1995). Causes and effects of interferences with clinical laboratory measurements and examinations. *In Kirk's Current Veterinary Therapy XII*. Philadelphie : Saunders, p 14-20.

CARRARO P, SERVIDIO G, et PLEBANI M (2000). Hemolyzed specimens a reason for rejection or a clinical challenge. *Clinical Chemistry*, **46**, 306-307.

CARRARO P et PLEBANI M (2007). Errors in a stat laboratory: types and frequencies 10 years later. *Clinical Chemistry*, **53**, 1338-1342.

CERON J, MARTINEZ-SUBIELA S, HENNEMANN C et coll (2004). The effects of different anticoagulants on routine canine plasma biochemistry. *The Veterinary Journal*, **167**, 294-30.

FARROW H, RAND J, MORTON J et coll (2012). Postprandial glycaemia in cats fed a moderate carbohydrate meal persists for a median of 12 hours -female cats have higher peak glucose concentrations. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **14**, 706-715.

FONTAINE M, HAMELIN N, et PARADIS M (1986). Stabilité des paramètres sanguins en fonction du temps, des conditions d'entreposage et de transport chez le chien. *Médecine Vétérinaire Québec*, **16**, 157-164.

FONTAINE M, HAMELIN N, et DIFRUSCIA R (1987). Stabilité des paramètres sanguins en fonction du temps, des conditions d'entreposage et de transport chez le chat. *Le Médecin Vétérinaire du Québec*, **17**, 117-123.

FRANK J, BERMES E, BICKEL M et coll (1978). Effect of in vitro hemolysis on chemical values for serum. *Clinical Chemistry*, **24**, 1966-1970.

GILOR S, et GILOR C (2011). Common laboratory artifacts caused by inappropriate sample collection and transport: how to get the most out of a sample. *Topics in Companion Animal Medicine*, **26**, 109-118.

GUNN-MOORE D, REED N, SIMPSON K et coll (2006). Effect of sample type, and timing of assay, on feline blood potassium concentration. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **8**, 192-196.

HEINS M, HEIL W et WITHOLD W (1995). Storage of serum or whole blood samples? Effects of time and temperature on 22 serum analytes. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, **33**, 231-238.

HEWSON-HUGHES A, GILHAM M, UPTON S et coll (2011). Postprandial glucose and insulin profiles following a glucose-loaded meal in cats and dogs. *British Journal of Nutrition*, **106**, S101-S104.

HOOIJBERG E, LEIDINGER E, et FREEMAN K (2012). An error management system in a veterinary clinical laboratory. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, **24**, 458-468.

JACOBSEN J et JENSEN A (1998). Comparison of haematological analyses of blood taken from the cephalic and marginal ear veins in cats. *Journal of Small Animal Practice*, **39**, 94-95.

JENSEN A et AAES H (1993). Critical differences of clinical chemical parameters in blood from dogs. *Research in Veterinary Science*, **54**, 10-14.

JENSEN A, WENCK A, et KOCH J (1994). Comparison of results of haematological and clinical chemical analyses of blood samples obtained from the cephalic and external jugular veins in dogs. *Research in Veterinary Science*, **56**, 24-29.

JONES G (2006). Effect of the reporting-interval size on critical difference estimation: beyond "2.77". *Clinical Chemistry*, **52**, 880-885.

KANEKO J, HARVEY J, et BRUSS M (1997). Clinical biochemistry of domestic animals. 5<sup>ème</sup> édition. London: Academic Press. 932 p. ISBN 0-12-396305-2.

KOSEOGLU M, HUR A, ATAY A et coll (2011). Effects of hemolysis interference on routine biochemistry parameters. *Biochemica Medica*, **21**, 79-85.

KROLL M, et ELIN R (1994). Interference with clinical laboratory analyses. *Clinical Chemistry*, **40**, 1996-2005.

LANDT M, HORTIN G, SMITH C et coll (1994). Interference in ionized calcium measurements by heparin salts. *Clinical Chemistry*, **40**, 565-570.

MARKOWITZ M, ROSEN J, LAXMINARAYAN S et coll (1984). Circadian rhythms of blood minerals during adolescence. *Pediatric research*, **18**, 456-462.

MARTIN G, et RAND J (1999). Food intake and blood glucose in normal and diabetic cats fed ad libitum. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **1**, 241-251.

MEDAILLE C, BRIEND-MARCHAL A, et BRAUN J-P (2005). Prélèvement sanguin. *Elsevier Masson Consulte Vétérinaire*, **2**, 1-13.

MEINKOTH J, et ALLISON R (2007). Sample collection and handling: getting accurate results. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, **37**, 203-219.

NARAYANAN S (1996). Pre and post analytical errors in lipid determination. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, **11**, 12-16.

NARAYANAN S (2000). The preanalytic phase - an important component of laboratory medicine. *American Journal of Clinical Pathology*, **113**, 429-452.

O'BRIEN M, MURPHY M, et LOWE J (1998). Hematology and clinical chemistry parameters in the cat (*Felis domesticus*). *Journal of Nutrition*, **128**, 2678S-2679S.

O'CONNOR W, et SUMMERILL R (1976a). The effect of a meal of meat on glomerular filtration rate in dogs at normal urine flows. *The Journal of Physiology*, **256**, 81-91.

O'CONNOR W, et SUMMERILL R (1976b). The excretion of urea by dogs following a meat meal. *The Journal of Physiology*, **256**, 93-102.

O'NEILL S, BERNARD M, et FELDMAN F (1989). Hemolysis as a factor in clinical chemistry and hematology of the dog. *Veterinary Clinical Pathology*, **18**, 58-68.

ONO T, KITAGUCHI K, TAKEHARA M et coll (1981). Serum-constituents analyses: effect of duration and temperature of storage of clotted blood. *Clinical Chemistry*, **27**, 35-38.

PAYRIERE M, LEFEBVRE H, et BRAUN J-P (1991). Effet du délai avant centrifugation et de l'hémolyse sur l'activité de la créatine kinase plasmatique chez le cheval et le chien. *Revue de Médecine Vétérinaire*, **142**, 749-751.

PLEBANI M, et CARRARO P (1997). Mistakes in a stat laboratory: types and frequency. *Clinical Chemistry*, **43**, 1348-1351.

RAND J, KINNAIRD E, BAGLIONI A (2002). Acute stress hyperglycemia in cats is associated with struggling and increased concentrations of lactate and norepinephrine. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **16**, 123-132.

REYNOLDS B, TAILLADE B, MEDAILLE C et coll (2006). Effect of repeated freeze-thaw cycles on routine plasma biochemical constituents in canine plasma. *Veterinary Clinical Pathology*, **35**, 339-340.

REYNOLDS B, BOUDET K, FAUCHER M et coll (2007). Comparison of a new device for blood sampling in cats with a vacuum tube collection system – plasma biochemistry,

haematology and practical usage assessment. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, **9**, 382-386.

REYNOLDS B, BOUDET K, GERMAIN C et coll (2008a). Determination of reference intervals for plasma biochemical values in clinically normal adult domestic shorthair cats by use of a dry-slide biochemical analyzer. *American Journal of Veterinary Research*, **69**, 471-477.

REYNOLDS B, BOUDET K, FAUCHER M et coll (2008b). Comparison of a new blood sampling device with the vacuum tube system for plasma and hematological analyses in healthy dogs. *Journal of the American Animal Hospital Association*, **44**, 51-59.

REYNOLDS B, CONCORDET D, GERMAIN C et coll (2010). Breed dependency of reference intervals for plasma biochemical values in cats. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, **24**, 809-818.

REYNOLDS B, GEFFRE A, BOURGES-ABELLA N et coll (2012). Effects of intravenous, low-dose ketamine-diazepam sedation on the results of hematologic plasma biochemical, and coagulation analyses in cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, **240**, 287-293.

SIMON A, LIMA P, ALMERINDA M, et coll. (1998). Renal haemodynamic responses to a chicken or beef meal in normal individuals. *Nephrology Dialysis Transplantation*, **13**, 2261-2264.

SONNTAG O (1986). Haemolysis as an interference factor in clinical chemistry. *Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, **24**, 127-139.

TAMMEN H. Specimen collection and handling: standardization of blood sample collection. *Methods in Molecular Biology*, **428**, 35-42.

THORESEN S, TVERDAL A, HAVRE G et coll (1995). Effects of storage time and freezing temperature on clinical chemical parameters from canine serum and heparinized plasma. *Veterinary Clinical Pathology*, **24**, 129-133.

WATSON A, CHURCH D et FAIRBURN A (1981). Postprandial changes in plasma urea and creatinine concentrations in dogs. *American Journal of Veterinary Research*, **42**,1878-1880.

WOODS L (1993). Mechanisms of renal hemodynamic regulation in response to protein feeding. *Kidney International*, **44**, 659-675.

YOUNG D et BERMES E (1986). Specimen collection and processing : sources of biological variation. In *Tietz textbook of clinical chemistry*. 2nd edition. Philadelphia : WB Saunders, p 58-101.

YÜCEL D et DALVA K (1992). Effect of in vitro haemolysis on 25 common biochemical tests. *Clinical Chemistry*, **32**, 575-577.

## ANNEXES

ANNEXE 1 : Participation des chats aux différentes séances de manipulation et volume de sang prélevé

ANNEXE 2 : Liste des chats participant à chaque séance de prélèvement

ANNEXE 3 : Résultats de l'étude de l'effet de l'anticoagulant (S= sérum ; H=plasma hépariné ; E=plasma EDTA ; C=plasma citraté)

ANNEXE 4 : Résultats de l'étude de l'effet de la congélation du plasma hépariné à -20°C

ANNEXE 5 : Résultats de l'étude de l'effet de la congélation du sérum à -20°C

ANNEXE 6 : Résultats de l'étude de l'effet du stockage du sang total à 20°C

ANNEXE 7 : Résultats de l'étude de l'effet du stockage du sang total à 4°C

ANNEXE 8 : Résultats de l'étude de l'effet du stockage du plasma hépariné à 20°C

ANNEXE 9 : Résultats de l'étude de l'effet du stockage du plasma hépariné à 4°C

ANNEXE 10 : Résultats de l'étude des variations circadiennes chez les chats à jeun (Période 1= 1<sup>ère</sup> séance de prélèvement ; Période 2=2<sup>ème</sup> séance de prélèvement)

ANNEXE 11 : Résultats de l'étude de l'effet du repas au cours de la journée (Période 1= 1<sup>ère</sup> séance de prélèvement ; Période 2=2<sup>ème</sup> séance de prélèvement)

ANNEXE 12 : Résultats de la confirmation de l'étude de l'effet du repas sur la concentration de créatinine et d'urée dans le plasma hépariné

ANNEXE 13 : Résultats de l'étude de l'effet des cycles de congélation/décongélation dans le plasma hépariné (Cycles= nombres de cycles de congélation/décongélation subis par l'échantillon de plasma hépariné)

ANNEXE 14 : Résultats de l'étude de l'effet des cycles de congélation/décongélation dans le sérum

ANNEXE 15 : Résultats de l'étude de l'effet de l'hémolyse

**ANNEXE 1 : Participation des chats aux différentes séances de manipulation et volume de sang prélevé**

Identification réduite	Nom	Date de naissance	Sexe	Code	Séances auxquelles le chat a participé	Volume de sang prélevé à chaque séance
25459	Princesse	07/09/2007 (4 ans)	F	A	Séance 1 (15/9/2011) Séance 5 (8/3/2012) Séance 6 (20/3/2012) Séance 7 (23/4/2012) Séance 9 (25/6/2012) Séance 10 (19/6/13)	10,8mL 7mL 7mL 12mL 12mL 7 mL
25479	Craintive	03/09/2007 (4 ans)	F	B	Séance 1 (15/9/2011)	10,8mL
36622	Blacky	28/11/2006 (5 ans)	M	C	Séance 1 (15/9/2011) Séance 3 (4/12/2011) Séance 7 (23/4/2012) Séance 9 (25/6/2012)	10,8mL 12mL 12mL 12mL
36713	Taguada	04/12/2006 (5ans)	F	D	Séance 1 (15/9/2011) Séance 7 (23/4/2012) Séance 9 (25/6/2012)	10,8mL 12mL 12mL
36722	Baguera II	04/12/2006 (5 ans)	M	E	Séance 1 (15/9/2011) Séance 3 (4/12/2011) Séance 5 (8/3/2012) Séance 6 (20/3/2012) Séance 10 (19/6/13)	10,8mL 12mL 7mL 7mL 7 mL
36837	Blue Blue	07/12/2006 (5 ans)	M	F	Séance 1 (15/9/2011) Séance 4 (5/12/2011) Séance 5 (8/3/2012) Séance 6 (20/3/2012) Séance 7 (23/4/2012) Séance 9 (25/6/2012) Séance 10 (19/6/13)	10,8mL 12mL 7mL 7mL 12mL 12mL 7 mL
36874	Calin	11/12/2006 (5 ans)	M	G	Séance 1 (15/9/2011) Séance 7 (23/4/2012) Séance 9 (25/6/2012)	10,8mL 12mL 12mL
36876	Panpan	15/12/2006 (5 ans)	M	H	Séance 1 (15/9/2011) Séance 7 (23/4/2012) Séance 9 (25/6/2012)	10,8mL 12mL 12mL
36878	Blackynette	13/12/2006 (5 ans)	F	I	Séance 1 (15/9/2011)	10,8mL
63975	Fada	05/06/2008 (3 ans)	F	J	Séance 1 (15/9/2011) Séance 7 (23/4/2012) Séance 9 (25/6/2012)	10,8mL 12mL 12mL
77678	Minus	02/06/2008 (3 ans)	F	K	Séance 1 (15/9/2011)	10,8mL
25491	Nefertiti	03/09/2007 (4 ans)	F	L	Séance 2 (22/11/2011) Séance 5 (8/3/2012) Séance 6 (20/3/2012) Séance 10 (19/6/13)	12mL 7mL 7mL 7 mL
36710	Ouistiti	04/12/2006 (5ans)	F	M	Séance 4 (5/12/2011) Séance 5 (8/3/2012) Séance 6 (20/3/2012) Séance 10 (19/6/13)	12mL 7mL 7mL 7 mL
36719	Gribouille	06/12/2006 (5 ans)	M	N	Séance 4 (5/12/2011)	12mL
36723	Joueur	04/12/2006 (5 ans)	M	O	Séance 3 (4/12/2011) Séance 5 (8/3/2012) Séance 6 (20/3/2012) Séance 10 (19/6/13)	12mL 7mL 7mL 7 mL
36890	Bouboule	11/12/2006 (5 ans)	F	P	Séance 3 (4/12/2011) Séance 5 (8/3/2012) Séance 6 (20/3/2012) Séance 7 (23/4/2012) Séance 9 (25/6/2012) Séance 10 (19/6/13)	12mL 7mL 7mL 12mL 12mL 7 mL
36893	Brownie	11/12/2006 (5 ans)	F	Q	Séance 4 (5/12/2011) Séance 5 (8/3/2012) Séance 6 (20/3/2012) Séance 10 (19/6/13)	12mL 7mL 7mL 7 mL

## ANNEXE 2 : Liste des chats participant à chaque séance de prélèvement

Etude	Objet de l'étude	Chats utilisés
1	Effet de l'anticoagulant	A, B, C, D, E, F, G, H, I, J et K
2	Effet de la congélation à -20°C sur une longue durée	A, B, C, D, E, F, G, H, I, J et K
3	Effet de la conservation du plasma hépariné, du sérum ou du sang total à température ambiante ou à 4°C	C, E, F, M, N, O, P et Q
4	Effet du moment de prélèvement et du repas	A, E, F, L, M, O, P et Q
5	Effet de cycles congélation/décongélation successifs	A, C, D, F, G, H, J et P
6	Effet de l'hémolyse à un degré variable	A, C, D, F, J et P

**ANNEXE 3 : Résultats de l'étude de l'effet de l'anticoagulant** (S= sérum ; H=plasma hépariné ;  
E=plasma EDTA ; C=plasma citraté)

CHAT	SPECIMEN	GLUCOSE (mmol/L)	UREE (mmol/L)	CREATININE ( $\mu$ mol/L)	SODIUM (mmol/L)	POTASSIUM (mmol/L)	CHLORE (mmol/L)
A	S	4.16	7.2	104.7	155	3.8	126
A	H	4.18	7.2	105.6	155	3.5	125
A	E	4.09	7.1	101.5	153		124
A	C	3.63	5.9	87.3	174	2.7	104
B	S	4.33	7.7	133.1	157	4	124
B	H	4.45	7.7	131	156	3.6	124
B	E	4.37	7.6	127	154		123
B	C	3.79	6.3	109.6	176	2.7	
C	S	4.49	6.9	124.5	157	3.6	125
C	H	4.56	7	124.5	157	3.4	125
C	E	4.54	7	120.2	154		124
C	C	3.84	5.6	102.1	177	2.6	99
D	S	4.15	7.1	104.2	159	3.9	125
D	H	4.43	7	105.2	160	3.3	125
D	E	4.21	7.1	100.4	157		124
D	C	3.41	5.2	78.1	183	2.3	93
E	S	4.47	7.4	96.8	157	3.5	125
E	H	4.46	7.4	98.2	157	3.4	126
E	E	4.38	7.4	94.6	155		124
E	C	3.83	6	80.2	176	2.7	103
F	S	4.27	6.8	124	157	4	126
F	H	4.38	7	124.1	156	3.6	126
F	E	4.36	7	119.9	155		125
F	C	3.7	5.7	104	175	2.7	104
G	S	4.19	6.9	92.6	156	4.1	126
G	H	4.41	7	91.9	156	3.5	127
G	E	4.23	6.8	88.3	152		124
G	C	3.69	5.6	76.6	176	2.7	101
H	S	4.31	6.4	123.7	157	3.7	126
H	H	4.56	6.4	123.9	157	3.3	127
H	E	4.42	6.4	119.6	154		126
H	C	3.82	5.1	102.3	175	2.5	102
I	S	4.27	7	119.2	157	4.1	126
I	H	4.33	7	118.6	156	3.4	126
I	E	4.24	7.1	115.2	154		124
I	C	3.79	5.7	100.7	176	2.5	104
J	S	6.61	6.8	124.9	161	4	127
J	H	6.53	6.7	124.3	160	3.8	128
J	E	6.08	6.8	117.5	154		124
J	C	5.53	5.5	101.3	183	3	99
K	S	6.08	7.4	125.7	158	3.5	126
K	H	5.92	7.3	124.8	158	3.2	125
K	E	5.61	7.2	119.9	153		123
K	C	4.81	5.9	101	179	2.5	98

CHAT	SPECIMEN	CO <sub>2</sub> (mmol/L)	CALCIUM (mmol/L)	PHOSPHATE (mmol/L)	PROTEINES (g/L)	ALBUMINE (g/L)	ALAT (U/L)	PAL (U/L)
A	S	18	2.4	1.29	61.8	31.5	40	31
A	H	18	2.39	1.25	62.2	31	32	30
A	E	16		1.23	60.1	33.3	40	10
A	C	13	1.19	1.05	54.1	32.1	41	23
B	S	16	2.52	1.41	69.1	35	48	43
B	H	17	2.51	1.35	68.8	34	39	41
B	E	17		1.32	66.9	36.4	48	12
B	C	14	1.2	1.12	58.6	35.5	45	30
C	S	17	2.41	1.29	70.4	33.1	34	23
C	H	18	2.44	1.28	71.8	33.2	22	24
C	E	16		1.26	70.6	36	32	10
C	C	13	1.11	1.03	60.4	35.1	30	18
D	S	18	2.42	1.3	70.3	32.2	60	27
D	H	19	2.4	1.21	70.2	32.3	51	25
D	E	17		1.19	68.4	34.2	61	11
D	C	11	0.86	0.92	56.3	34	52	17
E	S	17	2.4	1.34	63.3	31.6	73	24
E	H	16	2.4	1.34	63.4	31.2	66	23
E	E	15		1.32	62.1	33.4	73	10
E	C	13	1.16	1.11	54.3	32.5	67	18
F	S	17	2.52	1.16	64.9	32.8	55	22
F	H	17	2.5	1.11	65.5	32.6	47	21
F	E	16		1.11	63.7	35	57	12
F	C	13	1.22	0.93	55.8	34	51	18
G	S	17	2.43	1.39	62.4	30.7	47	20
G	H	16	2.43	1.3	63.4	30.3	39	20
G	E	15		1.26	62.3	33	47	12
G	C	12	1.11	1.07	54.6	32.4	43	17
H	S	18	2.4	1.1	62.5	29.3	44	34
H	H	18	2.39	1.07	63.4	29.1	37	34
H	E	17		1.05	62.6	30.9	45	12
H	C	15	1.1	0.88	54.1	31	42	25
I	S	17	2.48	1.19	65.8	31.3	74	16
I	H	17	2.44	1.13	65.4	30.4	65	15
I	E	17		1.11	64.1	32.6	74	10
I	C	13	1.22	0.96	57.1	32.3	68	13
J	S	12	2.58	1.31	74.9	39.7	69	31
J	H	12	2.58	1.28	74.6	38.6	58	25
J	E	11		1.23	68	41.6	64	13
J	C	9	1.11	1.03	60.1	40.2	58	21
K	S	12	2.53	1.33	70.5	34.5	55	41
K	H	13	2.52	1.28	69.4	33.3	52	34
K	E	12		1.23	66.1	37.3	56	14
K	C	11	1.13	1.03	60.2	35.9	55	24

**ANNEXE 4 : Résultats de l'étude de l'effet de la congélation du plasma hépariné à -20°C**

TEMPS (mois)	CHAT	GLUCOSE (mmol/L)	UREE (mmol/L)	CREATININE (µmol/L)	SODIUM (mmol/L)	POTASSIUM (mmol/L)	CHLORE (mmol/L)
0	A	4.18	7.2	105.6	155	3.5	125
0	B	4.45	7.7	131	156	3.6	124
0	C	4.56	7	124.5	157	3.4	125
0	D	4.43	7	105.2	160	3.3	125
0	E	4.46	7.4	98.2	157	3.4	126
0	F	4.38	7	124.1	156	3.6	126
0	G	4.41	7	91.9	156	3.5	127
0	H	4.56	6.4	123.9	157	3.3	127
0	I	4.33	7	118.6	156	3.4	126
0	K	5.92	7.3	124.8	158	3.2	125
0	J	6.53	6.7	124.3	160	3.8	128
1	A	4.31	7	104.6	153	3.5	126
1	B	4.58	7.6	131.8	153	3.6	124
1	C	4.67	6.8	125.8	155	3.5	126
1	D	4.53	7.2	105.5	157	3.3	126
1	E	4.62	7.3	99.4	153	3.4	126
1	F	4.32	6.9	123.6	155	3.6	126
1	G	4.56	6.9	92.2	154	3.5	128
1	H	4.58	6.6	124.7	155	3.3	128
1	I	4.36	7.4	119.8	155	3.3	127
1	K	6.08	7.5	126.4	152	3.2	126
1	J	6.54	6.7	122.5	153	3.7	129
3	A	4.23	7.3	104.7	151	3.4	124
3	B	4.41	7.7	129.6	150	3.6	122
3	C	4.57	7	122.6	153	3.4	125
3	D	4.43	7.3	102.8	154	3.3	125
3	E	4.46	7.5	95.9	152	3.4	123
3	F	4.25	7.2	123	150	3.5	126
3	G	4.37	7	88.5	148	3.3	125
3	H	4.5	6.7	122.5	152	3.3	125
3	I	4.26	7.4	116.9	149	3.2	126
3	K	5.89	7.5	125.7	150	3.1	125
3	J	6.33	6.9	121.3	154	3.7	126
6	A	4.19	7.3	107.6	155	3.5	126
6	B	4.13	7.7	137.5	157	3.7	126
6	C	.	.	.	.	.	.
6	D	4.36	7.2	105.7	157	3.3	125
6	E	4.46	7.5	99.9	156	3.5	127
6	F	4.24	7.1	128.3	158	3.7	127
6	G	4.46	7	94	.	.	129
6	H	.	.	.	.	.	.
6	I	4.22	7.3	121.4	156	3.4	127
6	K	.	.	.	.	.	.
6	J	.	.	.	.	.	.
12	A	4.27	7.1	106.5	154	3.4	125
12	B	4.46	7.4	133.8	154	3.6	122
12	C	4.7	6.8	127.3	157	3.5	127
12	D	4.23	6.8	99.7	148	3.2	120
12	E	4.57	7.2	100	155	3.4	127
12	F	4.12	6.7	122.9	154	3.5	124
12	G	4.48	6.8	93.3	157	3.4	128
12	H	4.24	6.4	119.8	149	3.2	124
12	I	4.25	7.3	119.9	156	3.4	128
12	K	5.64	7.4	125	156	3.2	126
12	J	.	.	.	.	.	.

TEMPS (mois)	CHAT	CO <sub>2</sub> (mmol/L)	CALCIUM (mmol/L)	PHOSPHATE (mmol/L)	PROTEINES (g/L)	ALBUMINE (g/L)	ALAT (U/L)	PAL (U/L)
0	A	18	2.39	1.25	62.2	31	32	30
0	B	17	2.51	1.35	68.8	34	39	41
0	C	18	2.44	1.28	71.8	33.2	22	24
0	D	19	2.4	1.21	70.2	32.3	51	25
0	E	16	2.4	1.34	63.4	31.2	66	23
0	F	17	2.5	1.11	65.5	32.6	47	21
0	G	16	2.43	1.3	63.4	30.3	39	20
0	H	18	2.39	1.07	63.4	29.1	37	34
0	I	17	2.44	1.13	65.4	30.4	65	15
0	K	13	2.52	1.28	69.4	33.3	52	34
0	J	12	2.58	1.28	74.6	38.6	58	25
1	A	17	2.38	1.22	61.2	30.1	33	30
1	B	16	2.51	1.31	67.7	33.1	41	41
1	C	17	2.48	1.25	71.4	32.8	24	24
1	D	17	2.45	1.19	68	31.6	51	25
1	E	15	2.44	1.3	64.1	30.7	58	23
1	F	16	2.52	1.08	63.8	32.3	43	20
1	G	15	2.47	1.27	63.3	30.4	42	18
1	H	15	2.42	1.05	63.6	29.7	39	33
1	I	16	2.51	1.11	65.8	30.5	62	14
1	K	12	2.47	1.23	70.5	33.2	53	30
1	J	12	2.48	1.24	77.1	37.9	64	20
3	A	16	2.35	1.24	61.8	30.3	32	29
3	B	14	2.42	1.31	67	33.7	37	40
3	C	15	2.36	1.24	74	31.9	25	22
3	D	16	2.35	1.19	68.4	31.3	41	24
3	E	14	2.32	1.29	63.6	29.8	53	22
3	F	15	2.38	1.08	66.3	32	36	20
3	G	14	2.3	1.26	65.9	28.7	35	17
3	H	15	2.35	1.07	63.2	29	33	32
3	I	15	2.34	1.1	68.9	29.6	51	13
3	K	11	2.35	1.24	71.8	33.3	46	30
3	J	10	2.42	1.27	73.9	36.4	57	19
6	A	15	2.43	1.27	62.3	30.8	34	28
6	B	14	2.52	1.39	69.2	34	38	39
6	C	.	.	.	.	.	.	.
6	D	15	2.42	1.22	67.7	31	41	23
6	E	13	2.42	1.37	64.2	31	54	22
6	F	15	2.47	1.13	65.2	32.9	39	20
6	G	11	2.47	1.33	64	31	37	.
6	H	.	.	.	.	.	.	.
6	I	15	2.45	1.16	65.9	30.6	51	14
6	K	.	.	.	.	.	.	.
6	J	.	.	.	.	.	.	.
12	A	13	2.33	1.2	61.6	28.7	18	26
12	B	12	2.42	1.36	66.2	31.7	19	36
12	C	13	2.44	1.32	71.8	32.4	10	22
12	D	12	2.13	1.15	62.3	26.9	19	20
12	E	11	2.3	1.35	62.6	29.9	32	22
12	F	13	2.34	1.11	66.1	30.2	21	19
12	G	11	2.36	1.34	63.7	29.7	21	18
12	H	12	2.18	1.05	60.7	26.7	17	26
12	I	13	2.38	1.16	65.7	28.8	32	13
12	K	8	2.39	1.29	67.9	31	23	28
12	J	.	.	.	.	.	.	.

**ANNEXE 5 : Résultats de l'étude de l'effet de la congélation du sérum à -20°C**

TEMPS (mois)	CHAT	GLUCOSE (mmol/L)	UREE (mmol/L)	CREATININE (µmol/L)	SODIUM (mmol/L)	POTASSIUM (mmol/L)	CHLORE (mmol/L)
0	A	4.16	7.2	104.7	155	3.8	126
0	B	4.33	7.7	133.1	157	4	124
0	C	4.49	6.9	124.5	157	3.6	125
0	D	4.15	7.1	104.2	159	3.9	125
0	E	4.47	7.4	96.8	157	3.5	125
0	F	4.27	6.8	124	157	4	126
0	G	4.19	6.9	92.6	156	4.1	126
0	H	4.31	6.4	123.7	157	3.7	126
0	I	4.27	7	119.2	157	4.1	126
0	K	6.08	7.4	125.7	158	3.5	126
0	J	6.61	6.8	124.9	161	4	127
1	A	4.32	7.3	106.3	153	3.8	126
1	B	4.41	7.6	133.4	155	4	125
1	C	4.6	6.8	126.5	156	3.7	126
1	D	4.26	7.2	105.4	156	3.9	125
1	E	4.64	7.4	99	154	3.5	126
1	F	4.28	7.1	123.5	152	3.9	127
1	G	4.29	6.9	93.1	155	4.1	127
1	H	4.33	6.6	126.4	152	3.6	128
1	I	4.29	7.3	120.6	155	4.1	127
1	K	6.19	7.5	126.4	156	3.6	126
1	J	6.79	6.9	127	.	.	129
3	A	4.28	7.6	105.2	145	3.6	126
3	B	4.38	7.8	134.1	154	4	124
3	C	4.66	7.3	128	158	3.7	128
3	D	4.25	7.4	105	156	3.9	125
3	E	4.6	7.6	99.1	154	3.5	125
3	F	4.27	7.2	125.9	154	3.9	126
3	G	4.28	7.1	92.4	153	4	126
3	H	4.32	6.8	125.5	155	3.7	126
3	I	4.3	7.3	120.7	156	4.1	127
3	K	6.09	7.5	127.8	156	3.6	124
3	J	.	.	.	.	.	.
6	A	4.19	7.4	109	157	3.9	127
6	B	.	.	.	.	.	.
6	C	.	.	.	.	.	.
6	D	.	.	.	.	.	.
6	E	.	.	.	.	.	.
6	F	4.14	7.1	130.6	157	4	127
6	G	.	.	.	.	.	.
6	H	.	.	.	.	.	.
6	I	4.02	7.2	116.8	152	4	124
6	K	.	.	.	.	.	.
6	J	.	.	.	.	.	.
12	A	4.31	7.1	110	156	3.8	126
12	B	4.3	7.4	131.8	152	3.9	121
12	C	4.56	6.7	126.6	.	.	127
12	D	4.3	7.1	108.2	158	3.9	126
12	E	4.57	7.3	102.7	157	3.5	127
12	F	4.21	6.8	128.5	156	4	128
12	G	4.21	6.8	94.6	156	4.1	128
12	H	4.29	6.8	129	157	3.7	129
12	I	4.22	7.3	120.9	157	4.1	129
12	K	.	.	.	.	.	.

12		J						
TEMPS (mois)	CHAT	CO <sub>2</sub> (mmol/L)	CALCIUM (mmol/L)	PHOSPHATE (mmol/L)	PROTEINES (g/L)	ALBUMINE (g/L)	ALAT (U/L)	PAL (U/L)
0	A	18	2.4	1.29	61.8	31.5	40	31
0	B	16	2.52	1.41	69.1	35	48	43
0	C	17	2.41	1.29	70.4	33.1	34	23
0	D	18	2.42	1.3	70.3	32.2	60	27
0	E	17	2.4	1.34	63.3	31.6	73	24
0	F	17	2.52	1.16	64.9	32.8	55	22
0	G	17	2.43	1.39	62.4	30.7	47	20
0	H	18	2.4	1.1	62.5	29.3	44	34
0	I	17	2.48	1.19	65.8	31.3	74	16
0	K	12	2.53	1.33	70.5	34.5	55	41
0	J	12	2.58	1.31	74.9	39.7	69	31
1	A	17	2.44	1.26	64.9	31.3	40	30
1	B	16	2.58	1.39	70.1	34.7	49	43
1	C	16	2.51	1.27	72.7	33.8	37	23
1	D	15	2.46	1.27	68.9	31.9	58	26
1	E	15	2.44	1.31	65.5	31.2	67	23
1	F	15	2.48	1.11	67.2	33	53	22
1	G	15	2.52	1.37	63.8	31	49	19
1	H	16	2.4	1.07	65.2	29.3	45	33
1	I	15	2.52	1.17	68.1	31.5	71	16
1	K	12	2.51	1.29	72.3	34.2	62	33
1	J	10	2.65	1.28	75.1	38.8	72	.
3	A	16	2.33	1.24	67.5	31	41	29
3	B	14	2.52	1.42	69.6	34.8	49	42
3	C	15	2.53	1.33	74.2	34.7	33	24
3	D	15	2.47	1.31	70.1	32.4	53	27
3	E	15	2.4	1.34	65.1	32	61	23
3	F	15	2.49	1.17	66.5	33.7	51	22
3	G	14	2.43	1.39	65.1	31.3	48	18
3	H	15	2.43	1.14	64.7	29.8	43	34
3	I	15	2.49	1.21	68	31.7	66	16
3	K	10	2.53	1.36	71.7	34	57	34
3	J	.	.	.	.	.	.	.
6	A	14	2.43	1.32	63	31.3	37	29
6	B	.	.	.	.	.	.	.
6	C	.	.	.	.	.	.	.
6	D	12	.	.	69	.	.	.
6	E	.	.	.	.	.	.	.
6	F	14	2.53	1.2	67.1	33.5	44	21
6	G	.	.	.	.	.	.	.
6	H	.	.	.	.	.	.	.
6	I	14	2.43	1.19	65.6	30.3	57	14
6	K	.	.	.	.	.	.	.
6	J	.	.	.	.	.	.	.
12	A	12	2.43	1.32	63.1	31	23	28
12	B	12	2.42	1.41	68.1	32	28	37
12	C	11	2.42	1.32	71.9	32.6	16	.
12	D	12	2.42	1.35	69.4	31.7	29	25
12	E	11	2.4	1.4	65.8	31.1	38	22
12	F	12	2.44	1.2	66.3	31.7	27	21
12	G	10	2.37	1.42	65.1	29.9	27	18
12	H	13	2.4	1.17	65	29.4	24	31
12	I	11	2.47	1.24	67.4	30.2	37	15
12	K	.	.	.	.	.	.	.
12	J	.	.	.	.	.	.	.

**ANNEXE 6 : Résultats de l'étude de l'effet du stockage du sang total à 20°C**

<b>CHAT</b>	<b>TEMPS (h)</b>	<b>GLUCOSE (mmol/L)</b>	<b>UREE (mmol/L)</b>	<b>CREATININE (µmol/L)</b>	<b>SODIUM (mmol/L)</b>	<b>POTASSIUM (mmol/L)</b>	<b>CHLORE (mmol/L)</b>
<b>C</b>	<b>0</b>	5.57	6.7	145.5	155	3.8	125
<b>F</b>	<b>0</b>	4.84	7	136.1	155	3.7	127
<b>M</b>	<b>0</b>	5.05	7.4	93.4	155	4.1	126
<b>N</b>	<b>0</b>	4.8	8.2	96.2	155	3.8	129
<b>O</b>	<b>0</b>	5.41	7.9	118	155	3.9	126
<b>P</b>	<b>0</b>	4.64	6.5	89.9	155	3.5	124
<b>Q</b>	<b>0</b>	4.48	8.6	109	155	3.7	126
<b>E</b>	<b>0</b>	5.04	7.7	107.9	155	3.6	127
<b>C</b>	<b>6</b>	4.69	6.6	150.6	154	3.7	126
<b>F</b>	<b>6</b>	3.71	6.8	140	155	3.6	126
<b>M</b>	<b>6</b>	4.05	7.2	97	154	3.9	125
<b>N</b>	<b>6</b>	3.6	8	98.2	156	3.7	127
<b>O</b>	<b>6</b>	4	7.8	122.1	154	3.8	126
<b>P</b>	<b>6</b>	3.67	6.4	89	155	3.4	124
<b>Q</b>	<b>6</b>	3.89	8.4	112.3	154	3.8	125
<b>E</b>	<b>6</b>	4.18	7.6	111.3	154	3.6	128
<b>C</b>	<b>24</b>	1.94	6.5	151.1	157	4.1	124
<b>F</b>	<b>24</b>	1.43	6.7	139.3	156	3.9	125
<b>M</b>	<b>24</b>	1.29	7	97.4	155	4	124
<b>N</b>	<b>24</b>	0.9	7.9	102.7	158	3.8	126
<b>O</b>	<b>24</b>	0.55	7.6	122.6	157	3.9	125
<b>P</b>	<b>24</b>	0.93	6.3	90.9	157	3.5	123
<b>Q</b>	<b>24</b>	1.83	8.3	112.3	156	4	126
<b>E</b>	<b>24</b>	1.24	7.4	112	156	3.6	127
<b>C</b>	<b>48</b>	0.55	6.4	152.1	157	4.2	123
<b>F</b>	<b>48</b>	0.55	6.6	140.1	155	4	125
<b>M</b>	<b>48</b>	0.55	7.1	96.2	154	4.4	124
<b>N</b>	<b>48</b>	0.55	8	101.2	157	4.1	127
<b>O</b>	<b>48</b>	0.55	7.7	123.3	156	4.5	124
<b>P</b>	<b>48</b>	0.55	6.3	90.1	156	3.9	122
<b>Q</b>	<b>48</b>	1	8.3	112.4	155	4	124
<b>E</b>	<b>48</b>	0.55	7.4	111.4	158	3.9	125
<b>C</b>	<b>168</b>	0.55	6.6	146.7	155	4.5	122
<b>F</b>	<b>168</b>	0.55	6.8	137.7	155	4.3	125
<b>M</b>	<b>168</b>	0.55	7.2	93.6	154	4.7	123
<b>N</b>	<b>168</b>	0.55	8	97.8	154	4.5	125
<b>O</b>	<b>168</b>	0.55	7.9	119.1	154	4.8	122
<b>P</b>	<b>168</b>	0.55	6.6	87.3	156	4.1	121
<b>Q</b>	<b>168</b>	0.55	8.5	111.8	154	4.3	124
<b>E</b>	<b>168</b>	.	.	.	.	.	.

CHAT	TEMPS (h)	CO <sub>2</sub> (mmol/L)	CALCIUM (mmol/L)	PHOSPHATE (mmol/L)	PROTEINES (g/L)	ALBUMINE (g/L)	ALAT (U/L)	PAL (U/L)
C	0	17	2.47	1.01	76.2	33.7	34	32
F	0	17	2.47	0.97	66.4	31.8	57	24
M	0	17	2.46	1.27	69.5	31.8	43	27
N	0	16	2.51	1.13	66.5	33.3	48	28
O	0	17	2.45	1.27	72	32.6	64	29
P	0	21	2.43	1.31	66.9	32.8	40	41
Q	0	17	2.39	1.41	68.5	33.2	36	24
E	0	17	2.37	0.97	67	31.3	63	25
C	6	15	2.53	1.06	77.4	34.6	39	31
F	6	17	2.49	1.03	68.3	32.6	69	24
M	6	17	2.47	1.28	71.5	32.1	48	28
N	6	16	2.49	1.16	66.4	33.4	55	29
O	6	15	2.51	1.28	72.8	32.5	73	27
P	6	19	2.49	1.33	66.7	33.2	45	41
Q	6	16	2.37	1.44	69.9	33.9	42	23
E	6	15	2.46	0.99	68.1	31.9	71	24
C	24	15	2.55	1.15	79.6	35.9	31	49
F	24	17	2.5	1.11	69.6	33	69	25
M	24	17	2.47	1.33	71.8	32.8	53	27
N	24	14	2.54	1.19	68.7	34.5	57	27
O	24	14	2.5	1.37	74.5	33.5	70	27
P	24	18	2.48	1.42	68.2	33.5	47	39
Q	24	16	2.46	1.54	70.2	35.4	44	21
E	24	13	2.46	1	68.5	32.6	74	22
C	48	14	2.55	1.31	79.6	36.3	42	30
F	48	15	2.47	1.25	67.3	33.3	69	25
M	48	15	2.44	1.49	71.3	33.5	49	28
N	48	13	2.53	1.35	68.1	35.2	56	28
O	48	14	2.52	1.59	73.8	33.4	73	27
P	48	17	2.49	1.59	68.5	33.5	53	40
Q	48	15	2.43	1.64	71.1	35.5	45	25
E	48	14	2.47	1.19	70.2	33.4	76	20
C	168	17	2.52	2.09	81.1	37.3	53	25
F	168	16	2.48	1.79	68.8	34.1	70	25
M	168	17	2.45	2.16	72.7	34.3	60	24
N	168	16	2.47	1.99	69	35.6	62	27
O	168	16	2.47	2.43	75.4	34.3	78	24
P	168	19	2.45	2.32	68.3	35.2	63	35
Q	168	15	2.42	2.27	72.2	36	52	21
E	168	.	.	.	.	.	.	.

**ANNEXE 7 : Résultats de l'étude de l'effet du stockage du sang total à 4°C**

<b>CHAT</b>	<b>TEMPS (h)</b>	<b>GLUCOSE (mmol/L)</b>	<b>UREE (mmol/L)</b>	<b>CREATININE (µmol/L)</b>	<b>SODIUM (mmol/L)</b>	<b>POTASSIUM (mmol/L)</b>	<b>CHLORE (mmol/L)</b>
C	0	5.57	6.7	145.5	155	3.8	125
F	0	4.84	7	136.1	155	3.7	127
M	0	5.05	7.4	93.4	155	4.1	126
N	0	4.8	8.2	96.2	155	3.8	129
O	0	5.41	7.9	118	155	3.9	126
P	0	4.64	6.5	89.9	155	3.5	124
Q	0	4.48	8.6	109	155	3.7	126
E	0	5.04	7.7	107.9	155	3.6	127
C	6	5.54	6.7	148.7	154	4.1	125
F	6	4.74	6.8	138.9	155	4	126
M	6	4.92	7.3	94.7	154	4.3	125
N	6	4.73	8.2	98.5	155	4.2	127
O	6	5.17	7.8	119.5	154	4.2	126
P	6	4.57	6.5	91.8	154	3.9	124
Q	6	4.53	8.4	111.8	154	4.1	125
E	6	4.95	7.7	110.4	154	3.7	128
C	24	5.08	6.5	148.9	154	4.4	124
F	24	4.41	6.9	137.3	155	4.2	127
M	24	4.72	7.3	95.9	154	4.6	125
N	24	4.39	8.1	98	156	4.4	128
O	24	4.57	7.9	119.5	153	4.6	125
P	24	4.16	6.4	90.5	155	4.2	124
Q	24	4.21	8.5	111.4	154	4.2	126
E	24	4.56	7.6	109.6	155	4.1	127
C	48	4.74	6.6	148.2	155	4.5	125
F	48	4.09	6.8	139.4	153	4.2	126
M	48	4.41	7.1	95.5	153	4.7	124
N	48	4.04	8.1	97.8	155	4.4	126
O	48	3.97	7.8	121	155	4.8	127
P	48	3.56	6.4	91.2	155	4.2	124
Q	48	3.9	8.4	110.9	154	4.3	125
E	48	4.17	7.7	110.1	157	4.2	128
C	168	3.19	6.6	145.1	154	4.6	124
F	168	2.45	6.8	137.7	155	4.4	126
M	168	3.03	7.1	95.9	153	4.7	126
N	168	2.15	8.2	98	157	4.5	127
O	168	1.41	7.7	121.7	155	4.9	125
P	168	1.87	6.5	89.5	155	4.3	124
Q	168	2.62	8.3	111.9	155	4.5	126
E	168	.	.	.	.	.	.

CHAT	TEMPS (h)	CO <sub>2</sub> (mmol/L)	CALCIUM (mmol/L)	PHOSPHATE (mmol/L)	PROTEINES (g/L)	ALBUMINE (g/L)	ALAT (U/L)	PAL (U/L)
C	0	17	2.47	1.01	76.2	33.7	34	32
F	0	17	2.47	0.97	66.4	31.8	57	24
M	0	17	2.46	1.27	69.5	31.8	43	27
N	0	16	2.51	1.13	66.5	33.3	48	28
O	0	17	2.45	1.27	72	32.6	64	29
P	0	21	2.43	1.31	66.9	32.8	40	41
Q	0	17	2.39	1.41	68.5	33.2	36	24
E	0	17	2.37	0.97	67	31.3	63	25
C	6	16	2.47	1.04	74.9	33.6	35	31
F	6	18	2.46	0.97	66.4	32	58	24
M	6	18	2.43	1.25	69.8	31.9	39	28
N	6	17	2.48	1.13	66.8	33.7	49	29
O	6	17	2.48	1.28	71.7	31.8	66	27
P	6	19	2.47	1.33	65.3	32.2	41	41
Q	6	16	2.36	1.38	68.6	34	39	23
E	6	16	2.46	0.99	66.5	31.7	64	22
C	24	16	2.49	1.05	75.6	33.9	35	29
F	24	18	2.47	1.01	68.5	32.2	61	25
M	24	19	2.43	1.28	70.9	32.9	44	28
N	24	17	2.48	1.16	67.7	33.6	51	29
O	24	16	2.45	1.31	71.3	31.9	68	28
P	24	19	2.47	1.35	65.2	32.3	43	41
Q	24	16	2.41	1.42	68.7	34	38	24
E	24	16	2.43	1.01	66.7	31.5	65	22
C	48	16	2.47	1.07	76.5	34.5	38	31
F	48	18	2.45	1.01	66.1	32.5	57	25
M	48	18	2.44	1.31	69.5	32.2	44	29
N	48	16	2.49	1.17	66.9	33.4	52	29
O	48	15	2.45	1.33	71.9	32.1	70	28
P	48	18	2.44	1.38	66.9	32.1	46	39
Q	48	16	2.36	1.43	69	34.2	39	23
E	48	15	2.45	1.02	69	32.6	71	16
C	168	15	2.43	1.14	76.2	34.6	40	26
F	168	18	2.45	1.06	68.7	32.4	63	22
M	168	18	2.43	1.36	70.3	33.4	46	26
N	168	17	2.46	1.22	66.5	34.6	54	27
O	168	14	2.45	1.43	73.2	33.2	75	25
P	168	18	2.41	1.48	68	34.3	53	31
Q	168	16	2.39	1.53	70	34.8	43	22
E	168	.	.	.	.	.	.	.

**ANNEXE 8 : Résultats de l'étude de l'effet du stockage du plasma hépariné à 20°C**

CHAT	TEMPS (h)	GLUCOSE (mmol/L)	UREE (mmol/L)	CREATININE (µmol/L)	SODIUM (mmol/L)	POTASSIUM (mmol/L)	CHLORE (mmol/L)
C	0	5.57	6.7	145.5	155	3.8	125
F	0	4.84	7	136.1	155	3.7	127
M	0	5.05	7.4	93.4	155	4.1	126
N	0	4.8	8.2	96.2	155	3.8	129
O	0	5.41	7.9	118	155	3.9	126
P	0	4.64	6.5	89.9	155	3.5	124
Q	0	4.48	8.6	109	155	3.7	126
E	0	5.04	7.7	107.9	155	3.6	127
C	6	5.31	6.8	150.3	154	3.8	124
F	6	4.87	6.8	138.9	154	3.6	125
M	6	5.18	7.3	95.8	154	4	124
N	6	4.86	8.2	97.9	156	3.8	127
O	6	5.43	7.9	118.8	154	3.9	127
P	6	4.7	6.5	90.1	155	3.5	124
Q	6	4.67	8.4	111.2	156	3.7	125
E	6	5.01	7.8	108.3	154	3.6	127
C	24	5.32	6.6	147	155	3.8	124
F	24	4.88	6.8	138.4	153	3.6	126
M	24	5.06	7.2	95.6	153	4	125
N	24	4.9	8.1	98.9	154	3.8	127
O	24	5.34	7.8	119.6	154	3.9	127
P	24	4.74	6.5	88.3	153	3.4	124
Q	24	4.47	8.5	111.9	153	3.9	127
E	24	5.02	7.8	110.3	153	3.5	128
C	48	5.24	6.6	146.3	153	3.8	124
F	48	4.81	6.8	137.4	153	3.6	126
M	48	5.06	7.2	94.1	152	4	125
N	48	4.79	8.2	99.1	155	3.8	127
O	48	5.38	7.9	120.5	154	3.9	126
P	48	4.72	6.5	88.4	154	3.4	124
Q	48	4.48	8.6	110.8	154	3.9	126
E	48	5.12	7.6	109.8	153	3.5	127
C	168	5.37	6.6	145.9	153	3.8	125
F	168	4.8	6.9	134.9	153	3.6	128
M	168	4.94	7.2	95.4	151	4	126
N	168	4.71	8.2	97.1	154	3.8	129
O	168	4.9	7.8	118.8	153	3.9	128
P	168	4.56	6.4	88.5	153	3.4	124
Q	168	4.51	8.6	112.5	152	3.8	127
E	168	5.03	7.7	108.7	154	3.6	128

CHAT	TEMPS (h)	CO <sub>2</sub> (mmol/L)	CALCIUM (mmol/L)	PHOSPHATE (mmol/L)	PROTEINES (g/L)	ALBUMINE (g/L)	ALAT (U/L)	PAL (U/L)
C	0	17	2.47	1.01	76.2	33.7	34	32
F	0	17	2.47	0.97	66.4	31.8	57	24
M	0	17	2.46	1.27	69.5	31.8	43	27
N	0	16	2.51	1.13	66.5	33.3	48	28
O	0	17	2.45	1.27	72	32.6	64	29
P	0	21	2.43	1.31	66.9	32.8	40	41
Q	0	17	2.39	1.41	68.5	33.2	36	24
E	0	17	2.37	0.97	67	31.3	63	25
C	6	17	2.51	1.02	76	34.3	38	28
F	6	17	2.47	0.97	66.5	31.8	68	25
M	6	17	2.46	1.26	69.6	31.7	47	28
N	6	16	2.5	1.13	66.5	33.5	55	28
O	6	16	2.52	1.27	71.5	31.4	75	27
P	6	20	2.46	1.31	65.2	32.3	47	40
Q	6	17	2.39	1.41	67.4	33.7	41	25
E	6	16	2.48	0.98	66.3	31.5	73	26
C	24	17	2.53	1.04	76.4	33.9	39	27
F	24	17	2.49	0.98	68	31.7	67	24
M	24	17	2.49	1.27	69.9	31.7	53	27
N	24	16	2.5	1.13	66.9	33.4	57	28
O	24	16	2.53	1.28	70.8	31	72	28
P	24	19	2.44	1.32	66.4	32.7	49	40
Q	24	17	2.44	1.46	68.2	33.5	46	26
E	24	17	2.44	0.99	67.2	31.6	78	23
C	48	16	2.5	1.05	76.5	33.9	44	26
F	48	16	2.51	1	68.1	32	69	25
M	48	17	2.47	1.28	69.8	32.2	53	28
N	48	16	2.52	1.16	67.2	33.2	57	28
O	48	15	2.49	1.29	71.5	31.5	76	28
P	48	19	2.5	1.34	67	32.5	50	40
Q	48	15	2.42	1.45	68.5	34.2	46	26
E	48	16	2.44	1	68.7	31.5	73	22
C	168	15	2.5	1.26	77.1	34.1	45	26
F	168	16	2.48	1.15	66.7	32.3	66	24
M	168	16	2.52	1.45	70.6	31.8	58	27
N	168	15	2.5	1.33	66.4	33.4	59	28
O	168	14	2.47	1.46	72	31.4	77	26
P	168	18	2.47	1.53	65.5	32.3	49	39
Q	168	15	2.42	1.56	68.5	33.6	46	26
E	168	16	2.44	1.18	66.9	31.3	71	22

**ANNEXE 9 : Résultats de l'étude de l'effet du stockage du plasma hépariné à 4°C**

CHAT	TEMPS (h)	GLUCOSE (mmol/L)	UREE (mmol/L)	CREATININE (µmol/L)	SODIUM (mmol/L)	POTASSIUM (mmol/L)	CHLORE (mmol/L)
C	0	5.57	6.7	145.5	155	3.8	125
F	0	4.84	7	136.1	155	3.7	127
M	0	5.05	7.4	93.4	155	4.1	126
N	0	4.8	8.2	96.2	155	3.8	129
O	0	5.41	7.9	118	155	3.9	126
P	0	4.64	6.5	89.9	155	3.5	124
Q	0	4.48	8.6	109	155	3.7	126
E	0	5.04	7.7	107.9	155	3.6	127
C	6	5.28	6.7	148.1	154	3.7	123
F	6	4.84	6.8	136.3	155	3.7	126
M	6	5.17	7.2	96.2	155	4	125
N	6	4.85	8.1	97.9	156	3.8	127
O	6	5.56	8	120.9	154	3.9	126
P	6	4.71	6.5	89.9	155	3.6	123
Q	6	4.58	8.5	112.1	155	3.8	125
E	6	5.09	7.7	109.8	155	3.6	126
C	24	5.24	6.6	147.2	154	3.7	123
F	24	4.88	6.8	138.4	155	3.6	126
M	24	5.12	7.3	95.9	153	4.1	126
N	24	4.9	8.1	99.4	156	3.8	128
O	24	5.54	7.8	121	154	3.9	127
P	24	4.7	6.6	90.4	155	3.6	124
Q	24	4.46	8.4	110.9	155	3.8	127
E	24	5.1	7.7	109.7	154	3.6	127
C	48	5.26	6.6	148.3	154	3.7	124
F	48	4.91	6.8	138.4	155	3.6	126
M	48	5.08	7.2	94.1	152	4	125
N	48	4.87	8.1	97.9	156	3.8	127
O	48	5.58	7.8	121	156	3.9	126
P	48	4.69	6.5	90	156	3.6	124
Q	48	4.48	8.5	111	154	3.8	125
E	48	5.1	7.5	110.3	155	3.6	127
C	168	5.25	6.6	146.8	153	3.7	124
F	168	4.79	6.9	133.8	153	3.6	127
M	168	5.03	7.1	93	150	4	125
N	168	4.79	8.1	95.4	153	3.8	128
O	168	5.6	7.9	119.3	154	3.9	127
P	168	4.63	6.4	89	153	3.4	123
Q	168	4.56	8.5	112.3	155	3.7	127
E	168	5.1	7.7	108.8	154	3.6	127

CHAT	TEMPS (h)	CO <sub>2</sub> (mmol/L)	CALCIUM (mmol/L)	PHOSPHATE (mmol/L)	PROTEINES (g/L)	ALBUMINE (g/L)	ALAT (U/L)	PAL (U/L)
C	0	17	2.47	1.01	76.2	33.7	34	32
F	0	17	2.47	0.97	66.4	31.8	57	24
M	0	17	2.46	1.27	69.5	31.8	43	27
N	0	16	2.51	1.13	66.5	33.3	48	28
O	0	17	2.45	1.27	72	32.6	64	29
P	0	21	2.43	1.31	66.9	32.8	40	41
Q	0	17	2.39	1.41	68.5	33.2	36	24
E	0	17	2.37	0.97	67	31.3	63	25
C	6	17	2.48	1.01	76.1	33.5	32	27
F	6	19	2.49	0.95	66.8	31.6	59	25
M	6	18	2.42	1.25	69.9	31.3	45	28
N	6	16	2.49	1.12	66.9	33.2	50	29
O	6	17	2.48	1.26	71	31.1	65	28
P	6	21	2.47	1.31	65.2	32	44	40
Q	6	18	2.38	1.43	68.7	33.6	38	26
E	6	17	2.44	0.97	66.6	31.1	62	24
C	24	17	2.48	1.02	75.6	33.4	32	25
F	24	18	2.51	0.96	67.2	31.8	56	24
M	24	19	2.47	1.25	69.3	31.5	44	27
N	24	18	2.5	1.12	66.4	32.6	50	28
O	24	17	2.49	1.27	71	31.4	66	28
P	24	21	2.46	1.31	65.8	31.5	45	40
Q	24	17	2.39	1.43	67.7	33.9	41	26
E	24	18	2.41	0.98	66.3	30.7	67	26
C	48	17	2.48	1.02	76	33.2	33	25
F	48	18	2.49	0.97	67.2	31.3	58	25
M	48	18	2.42	1.24	67.9	31.3	43	28
N	48	17	2.49	1.12	67.2	32.7	49	29
O	48	17	2.47	1.26	71.6	31.4	68	27
P	48	20	2.47	1.31	66	31	50	39
Q	48	18	2.41	1.43	68.5	33.5	40	27
E	48	17	2.45	0.98	67.9	31.1	67	25
C	168	19	2.47	1.05	78.3	33.3	36	24
F	168	17	2.49	0.97	65.7	31.2	61	25
M	168	18	2.41	1.25	68.8	30.9	46	27
N	168	18	2.43	1.13	64.2	31.8	51	28
O	168	16	2.47	1.28	70.1	31.1	70	28
P	168	20	2.4	1.31	63.9	31	47	39
Q	168	16	2.41	1.41	68.2	33.7	41	26
E	168	18	2.42	1	67.4	30.8	70	25

**ANNEXE 10 : Résultats de l'étude des variations circadiennes chez les chats à jeun** (Période 1= 1<sup>ère</sup> séance de prélèvement ; Période 2=2<sup>ème</sup> séance de prélèvement)

CHAT	TEMPS APRES LE REPAS (h)	PERIODE	GLUCOSE (mmol/L)	UREE (mmol/L)	CREATININE (µmol/L)	SODIUM (mmol/L)	POTASSIUM (mmol/L)
A	0	1	3.9	6.6	100.5	154	3.8
A	2	1	4.01	6.5	108.3	153	3.7
A	4	1	3.84	6.9	118.1	151	3.6
A	6	1	3.93	7.1	122.9	151	4.1
A	8	1	4.03	7.7	128.7	152	3.6
A	10	1	3.8	8	131.6	152	3.7
A	12	1	3.8	8.2	134.6	153	3.7
M	0	1	4.15	6.3	96.1	153	3.5
M	2	1	4.2	6.6	99.8	150	3.1
M	4	1	4.12	6.8	108.1	153	3.2
M	6	1	4.19	6.6	100.8	151	3.4
M	8	1	4.31	6.7	100.9	153	3.3
M	10	1	4.19	6.7	99.8	153	3.1
M	12	1	4.09	6.8	99.9	151	3.6
E	0	1	4.31	6.5	102.7	152	3.4
E	2	1	4.38	6.7	110.7	149	3.4
E	4	1	4.49	7.3	118.2	153	3.3
E	6	1	4.41	7.2	113.6	152	3.9
E	8	1	4.13	7.3	109.1	154	3.4
E	10	1	4.22	7.4	108.8	154	3.4
E	12	1	4.43	7.1	105.5	154	3
L	0	1	4.05	6.9	118.6	153	3.6
L	2	1	4.06	6.8	129.5	153	3.5
L	4	1	4.05	7.4	135.7	152	3.5
L	6	1	4.18	7.4	136.1	153	3.6
L	8	1	4.09	7.8	136.7	153	3.4
L	10	1	4.12	7.6	131	152	3.8
L	12	1	4.06	7.8	128.5	153	3.5
F	0	2	4.16	6.4	114.6	154	3.8
F	2	2	4.38	6.8	128	154	3.6
F	4	2	4.11	7.3	137.2	155	3.4
F	6	2	4.51	7.4	140.4	154	3.7
F	8	2	4.23	7.7	143.4	155	3.6
F	10	2	4.25	7.8	143.9	153	3.6
F	12	2	4.8	7.9	153.8	158	4
O	0	2	4.76	8.2	94.5	152	4.2
O	2	2	4.94	7.7	99.9	153	4.1
O	4	2	4.96	7.7	113.5	154	4.1
O	6	2	4.81	7.9	120.2	155	4
O	8	2	4.57	8.3	126.7	155	4
O	10	2	4.79	8.6	131.4	155	3.8
O	12	2	4.8	8.7	131.2	156	3.9
P	0	2	4.21	5.8	71.8	154	3.4
P	2	2	4.31	6.3	81.1	155	3.2
P	4	2	3.95	6.9	85.1	156	3.5
P	6	2	4	7.1	84.4	156	3.8
P	8	2	3.87	7.4	83.8	156	3.4
P	10	2	3.97	7.4	80.9	157	3.3
P	12	2	4.07	7.4	79.6	156	2.9
Q	0	2	4.41	7.7	124.1	154	3.8
Q	2	2	4.36	8	143.9	154	3.8
Q	4	2	4.07	8.4	158.9	154	3.8
Q	6	2	4.31	8.9	161.6	154	3.5
Q	8	2	.	.	.	.	.
Q	10	2	4.06	9.3	162.2	155	3.1
Q	12	2	4.2	9.4	158.4	155	3.3

CHAT	TEMPS APRES LE REPAS (h)	PERIODE	CHLORE (mmol/L)	CO <sub>2</sub> (mmol/L)	CALCIUM (mmol/L)	PHOSPHATE (mmol/L)	CHOLESTEROL (mmol/L)
A	0	1	123	18	2.28	1.29	3.37
A	2	1	123	17	2.31	1.14	3.25
A	4	1	123	18	2.25	1.14	3.05
A	6	1	122	17	2.36	1.24	3.4
A	8	1	122	17	2.29	1.18	3.17
A	10	1	123	18	2.29	1.17	3.05
A	12	1	122	17	2.34	1.19	3.2
M	0	1	122	18	2.35	1.19	3.21
M	2	1	121	16	2.28	1.14	3.07
M	4	1	123	18	2.29	1.12	2.9
M	6	1	121	18	2.32	1.12	3.05
M	8	1	122	18	2.3	1.04	2.96
M	10	1	123	17	2.31	1.06	2.91
M	12	1	123	18	2.25	1.04	2.8
E	0	1	122	16	2.32	1.12	2.89
E	2	1	121	15	2.34	1.08	2.79
E	4	1	123	16	2.38	1.13	2.82
E	6	1	122	16	2.37	1.23	2.84
E	8	1	123	17	2.35	1.14	2.74
E	10	1	123	18	2.41	1.25	2.79
E	12	1	123	17	2.33	1.15	2.74
L	0	1	122	17	2.43	1.24	4.09
L	2	1	124	17	2.45	1.16	4.09
L	4	1	123	17	2.42	1.26	3.94
L	6	1	122	16	2.52	1.31	4.34
L	8	1	124	18	2.43	1.37	3.93
L	10	1	122	16	2.5	1.43	4.11
L	12	1	122	18	2.42	1.32	3.76
F	0	2	123	16	2.44	0.97	3.51
F	2	2	123	16	2.46	1.01	3.4
F	4	2	123	17	2.46	1	3.36
F	6	2	123	17	2.47	1.04	3.5
F	8	2	122	17	2.47	1.07	3.33
F	10	2	122	17	2.48	1.13	3.38
F	12	2	123	16	2.54	1.19	3.62
O	0	2	123	13	2.39	1.41	4.06
O	2	2	122	13	2.38	1.22	4.01
O	4	2	124	16	2.45	1.24	4.01
O	6	2	124	15	2.48	1.31	3.94
O	8	2	124	17	2.46	1.27	3.88
O	10	2	123	18	2.47	1.33	3.96
O	12	2	123	16	2.5	1.31	4.03
P	0	2	120	19	2.41	1.31	2.75
P	2	2	120	18	2.48	1.26	2.77
P	4	2	120	18	2.47	1.3	2.68
P	6	2	121	19	2.48	1.4	2.74
P	8	2	122	19	2.43	1.33	2.49
P	10	2	121	18	2.45	1.4	2.65
P	12	2	121	19	2.42	1.49	2.52
Q	0	2	121	16	2.37	1.32	4.29
Q	2	2	122	16	2.42	1.28	4.09
Q	4	2	122	16	2.46	1.27	4.05
Q	6	2	123	17	2.48	1.27	4.03
Q	8	2	.	.	.	.	.
Q	10	2	122	18	2.54	1.08	3.98
Q	12	2	121	17	2.53	1.23	4.04

CHAT	TEMPS APRES LE REPAS (h)	PERIODE	TRIGLYCERIDES (mmol/L)	PROTEINES (g/L)	ALBUMINE (g/L)	ALAT (U/L)	PAL (U/L)
A	0	1	0.3	60.3	30.3	50	21
A	2	1	0.34	55.9	28.4	52	28
A	4	1	0.27	54.5	27	50	23
A	6	1	0.34	61.5	30.8	55	27
A	8	1	0.28	55.8	27.9	57	29
A	10	1	0.26	54.8	27.2	56	26
A	12	1	0.27	56.6	28.3	57	30
M	0	1	0.24	61.4	27	81	26
M	2	1	0.27	59.5	26.3	78	27
M	4	1	0.22	58.4	26	80	26
M	6	1	0.24	61.8	27.5	81	24
M	8	1	0.23	59.5	26.8	77	26
M	10	1	0.21	58.4	26.7	75	28
M	12	1	0.2	57	25.5	76	25
E	0	1	0.26	62.3	29	73	20
E	2	1	0.32	60.8	28.1	69	23
E	4	1	0.28	61.7	28.9	77	22
E	6	1	0.29	62.1	29.5	75	23
E	8	1	0.24	60.1	28.1	75	23
E	10	1	0.24	62.6	29.6	76	24
E	12	1	0.26	61.8	28.8	75	24
L	0	1	0.25	62.4	28.9	91	18
L	2	1	0.28	60	27.2	86	27
L	4	1	0.21	59.2	27.5	83	26
L	6	1	0.32	65.3	30.7	92	26
L	8	1	0.24	59.6	27.7	86	26
L	10	1	0.32	64.5	30.1	90	24
L	12	1	0.23	59	27.6	85	24
F	0	2	0.35	62.7	30.6	63	23
F	2	2	0.29	61.9	30.3	64	22
F	4	2	0.25	60.4	30.1	64	22
F	6	2	0.31	63.6	31.3	69	21
F	8	2	0.23	61.9	30.2	64	21
F	10	2	0.26	62.2	30.9	66	21
F	12	2	0.29	66.9	33.5	70	19
O	0	2	0.37	67.9	30.2	64	23
O	2	2	0.3	66.9	30.6	65	26
O	4	2	0.33	68.3	31	68	23
O	6	2	0.32	66.3	30	63	22
O	8	2	0.29	65.9	30.5	69	26
O	10	2	0.27	67.8	31.1	70	28
O	12	2	0.31	69	31.6	67	25
P	0	2	0.28	60.4	30.4	50	36
P	2	2	0.33	61.5	31.3	48	36
P	4	2	0.33	60.9	31	52	32
P	6	2	0.32	62.2	31.8	52	33
P	8	2	0.26	59.8	30.3	56	29
P	10	2	0.26	61.3	31.4	55	35
P	12	2	0.25	58.2	29.7	53	35
Q	0	2	0.33	64.1	32	37	22
Q	2	2	0.27	62.9	31.6	38	21
Q	4	2	0.27	63.6	32.1	44	23
Q	6	2	0.42	63.1	32.2	40	22
Q	8	2	.	.	.	.	.
Q	10	2	0.3	64.9	33.6	50	22
Q	12	2	0.29	65.8	33.9	55	24

**ANNEXE 11 : Résultats de l'étude de l'effet du repas au cours de la journée** (Période 1= 1<sup>ère</sup> séance de prélèvement ; Période 2=2<sup>ème</sup> séance de prélèvement)

CHAT	TEMPS APRES LE REPAS (h)	PERIODE	GLUCOSE (mmol/L)	UREE (mmol/L)	CREATININE (µmol/L)	SODIUM (mmol/L)	POTASSIUM (mmol/L)
A	0	2	4.15	6.9	94.7	152	3.8
A	2	2	3.55	8.5	107	157	3.5
A	4	2	4.26	10.1	104.6	154	3.7
A	6	2	4.32	10.3	103.9	154	3.9
A	8	2	4.17	10.4	99.3	154	4
A	10	2	4.32	9.4	98.8	156	3.9
A	12	2	4.42	9.1	99.5	157	4.3
M	0	2	4.44	6	83.6	152	3.7
M	2	2	3.59	7.3	98.2	158	3.3
M	4	2	4.17	8.9	97.3	157	3.6
M	6	2	4.29	9.6	87	156	3.7
M	8	2	4.2	10.1	83	155	3.7
M	10	2	4.78	9.6	78.2	156	3.2
M	12	2	5.13	9.3	77.2	154	3.4
E	0	2	4.05	6.9	99.9	154	3.5
E	2	2	4.34	8.2	105	157	3.1
E	4	2	4.08	9.7	101.3	160	3.6
E	6	2	4.55	9.8	97.2	157	3.6
E	8	2	4.8	9.6	92	157	3.5
E	10	2	4.61	9.7	91.8	157	3.5
E	12	2	4.88	9.3	93.3	157	3.5
L	0	2	4.15	6.5	113.9	154	3.7
L	2	2	3.69	8.3	117.5	160	3.3
L	4	2	4.12	9.8	106.7	157	4
L	6	2	3.91	10.8	94.4	157	3.8
L	8	2	4.21	10.9	89.6	155	3.9
L	10	2	4.29	10.2	87.8	156	3.5
L	12	2	4.17	9.9	89.8	157	3.2
F	0	1	4.24	6.1	111.9	153	3.8
F	2	1	4.16	7.9	125.7	157	3.7
F	4	1	3.78	9.4	120.8	155	4.1
F	6	1	5.48	9.8	114.6	156	3.8
F	8	1	4.4	10.6	115.8	156	3.5
F	10	1	4.27	10.5	116.6	155	3.4
F	12	1	4.3	10.2	118.2	156	3.4
O	0	1	4.4	7.9	99.8	152	4
O	2	1	4.46	9.1	112.5	157	3.9
O	4	1	4.5	10.4	114	158	4.1
O	6	1	5.56	10.5	110.4	158	3.9
O	8	1	4.57	10.8	109.2	159	4.3
O	10	1	4.8	10.5	110.1	158	4.4
O	12	1	4.76	10.5	116	159	4.3
P	0	1	4.17	5.9	75.7	152	3.4
P	2	1	3.81	7.6	82.1	156	3.4
P	4	1	3.83	8.9	79.4	155	3.8
P	6	1	4.37	9.6	77	155	4.7
P	8	1	4.38	9.6	67.9	155	3.4
P	10	1	4.43	8.9	66	153	3.2
P	12	1	4.17	8.6	68	155	3.5
Q	0	1	4.33	7.5	130.9	154	3.9
Q	2	1	3.72	8.9	133	156	3.7
Q	4	1	3.77	10.5	131.6	157	3.9
Q	6	1	4.11	11.3	122.4	155	3.9
Q	8	1	4.47	11.6	115.6	156	4
Q	10	1	4.69	11.4	113.5	156	3.7
Q	12	1	4.66	11.2	110	155	3.8

CHAT	TEMPS APRES LE REPAS (h)	PERIODE	CHLORE (mmol/L)	CO <sub>2</sub> (mmol/L)	CALCIUM (mmol/L)	PHOSPHATE (mmol/L)	CHOLESTEROL (mmol/L)
A	0	2	122	17	2.28	1.25	3.31
A	2	2	121	22	2.43	1.28	3.44
A	4	2	120	20	2.39	1.21	3.36
A	6	2	121	19	2.4	1.39	3.46
A	8	2	123	17	2.32	1.3	3.31
A	10	2	122	19	2.4	1.42	3.54
A	12	2	124	16	2.42	1.41	3.41
M	0	2	122	16	2.32	1.22	3.4
M	2	2	121	22	2.38	1.39	3.38
M	4	2	124	19	2.31	1.39	3.19
M	6	2	121	19	2.44	1.44	3.54
M	8	2	121	17	2.36	1.64	3.33
M	10	2	121	19	2.39	1.61	3.48
M	12	2	122	18	2.39	1.54	3.36
E	0	2	123	16	2.32	1.21	2.82
E	2	2	119	22	2.49	1.23	2.94
E	4	2	124	21	2.4	1.4	2.87
E	6	2	124	18	2.31	1.46	2.72
E	8	2	124	17	2.33	1.47	2.74
E	10	2	125	16	2.36	1.62	2.79
E	12	2	124	16	2.39	1.52	2.79
L	0	2	122	19	2.49	1.24	4.13
L	2	2	120	24	2.58	1.48	4.39
L	4	2	124	19	2.41	1.61	4
L	6	2	122	20	2.4	1.58	4.09
L	8	2	122	18	2.34	1.71	3.94
L	10	2	123	17	2.39	1.72	4.28
L	12	2	125	17	2.4	1.59	4.21
F	0	1	125	14	2.31	1.11	3.45
F	2	1	124	20	2.39	1.1	3.51
F	4	1	125	16	2.34	0.99	3.41
F	6	1	123	18	2.4	1	3.6
F	8	1	124	17	2.43	1.14	3.47
F	10	1	125	16	2.4	1.26	3.5
F	12	1	124	16	2.4	1.27	3.43
O	0	1	124	14	2.36	1.21	4.02
O	2	1	123	18	2.43	1.21	3.96
O	4	1	125	18	2.45	1.19	3.88
O	6	1	125	16	2.44	1.32	3.93
O	8	1	127	15	2.44	1.32	4.11
O	10	1	127	15	2.43	1.31	4.13
O	12	1	127	16	2.43	1.27	4.03
P	0	1	121	17	2.36	1.25	2.82
P	2	1	120	22	2.38	1.28	2.76
P	4	1	121	18	2.39	1.4	2.82
P	6	1	121	19	2.44	1.59	2.9
P	8	1	121	19	2.31	1.57	2.76
P	10	1	121	19	2.33	1.43	2.72
P	12	1	121	16	2.43	1.43	2.9
Q	0	1	122	17	2.43	1.25	4.31
Q	2	1	119	21	2.5	1.36	4.52
Q	4	1	119	20	2.53	1.39	4.4
Q	6	1	119	18	2.45	1.49	4.33
Q	8	1	121	19	2.46	1.51	4.21
Q	10	1	121	17	2.45	1.42	4.21
Q	12	1	122	16	2.41	1.32	4.03

CHAT	TEMPS APRES LE REPAS (h)	PERIODE	TRIGLYCERIDES (mmol/L)	PROTEINES (g/L)	ALBUMINE (g/L)	ALAT (U/L)	PAL (U/L)
A	0	2	0.27	57.3	28.1	52	28
A	2	2	0.73	60.1	30.1	56	30
A	4	2	0.9	57.6	29	52	32
A	6	2	0.75	60.1	29.9	54	31
A	8	2	0.59	58.5	29.2	54	26
A	10	2	0.47	61.6	31.4	56	27
A	12	2	0.63	58.8	29.1	55	30
M	0	2	0.25	61.9	27.9	61	26
M	2	2	0.32	63.4	28.1	60	26
M	4	2	0.33	58.5	26	55	25
M	6	2	0.29	66.5	30.1	59	20
M	8	2	0.45	63.8	28.6	61	23
M	10	2	0.36	63.6	28.5	61	25
M	12	2	0.37	61.9	27.8	64	24
E	0	2	0.23	61.6	28.3	82	25
E	2	2	0.47	66	31.4	86	29
E	4	2	0.44	63.7	29.9	81	26
E	6	2	0.25	61.8	28.6	78	23
E	8	2	0.4	61.7	28.6	75	21
E	10	2	0.38	62.2	29.2	77	27
E	12	2	0.32	63.9	29.7	73	23
L	0	2	0.26	62.5	28.9	90	25
L	2	2	0.53	65.8	31.1	93	26
L	4	2	0.6	59	27.7	86	22
L	6	2	0.98	61.7	29	85	25
L	8	2	0.97	58.8	27.4	83	22
L	10	2	0.62	61.9	29.3	85	24
L	12	2	0.48	63.4	29.3	89	24
F	0	1	0.31	61.2	29.6	50	18
F	2	1	0.78	62.4	31.1	51	24
F	4	1	0.61	60.9	29.4	50	23
F	6	1	0.63	62.1	31.3	53	22
F	8	1	0.51	60.5	29.5	50	23
F	10	1	0.55	61.1	30.3	54	23
F	12	1	0.52	59	29.3	48	24
O	0	1	0.35	67.5	30.5	68	22
O	2	1	0.47	66.6	30.7	66	27
O	4	1	0.5	65.7	30	69	24
O	6	1	0.51	65.3	29.9	64	24
O	8	1	0.61	68.9	32	67	30
O	10	1	0.32	68.3	31.5	68	25
O	12	1	0.41	66.7	31.1	69	27
P	0	1	0.29	60.3	30.1	50	32
P	2	1	0.82	59.3	30.4	51	39
P	4	1	0.77	59.9	30.3	50	38
P	6	1	0.9	62.5	31.9	51	30
P	8	1	0.8	57.6	29.5	51	30
P	10	1	0.51	57.5	29.1	53	33
P	12	1	0.77	61.7	31.9	56	37
Q	0	1	0.28	64.2	33.2	42	18
Q	2	1	0.61	66.8	34.3	39	26
Q	4	1	0.73	66.6	34.5	43	20
Q	6	1	0.56	66.4	34.6	41	18
Q	8	1	0.65	62.8	33.1	41	24
Q	10	1	0.55	63.5	33.2	44	21
Q	12	1	0.53	60	31	43	26

**ANNEXE 12 : Résultats de la confirmation de l'étude de l'effet du repas sur la concentration de créatinine et d'urée dans le plasma hépariné**

CHAT	TEMPS APRES LE REPAS (h)	PERIODE	UREE (mmol/L)	CREATININE ( $\mu$ mol/L)
A	0	1	6.4	77.7
A	2	1	7.6	97.5
A	4	1	9.9	103
A	6	1	10.3	105.5
A	8	1	10.4	97.1
A	10	1	9.8	94.3
A	12	1	9.4	97.3
E	0	1	6.2	79.3
E	2	1	7.6	95.6
E	4	1	9	97.1
E	6	1	9.4	91.9
E	8	1	9.7	88.1
E	10	1	9.8	95.4
E	12	1	9.3	95.7
F	0	1	6.8	101.9
F	2	1	8.2	134.7
F	4	1	10.3	135
F	6	1	11.3	128.4
F	8	1	11.4	127.5
F	10	1	11.2	126.3
F	12	1	10.5	119.6
L	0	1	6.9	125.8
L	2	1	7.8	141.6
L	4	1	8.9	121.5
L	6	1	10.2	115.7
L	8	1	10.2	105.5
L	10	1	10.1	99.1
L	12	1	9.8	100
M	0	1	6.8	81.2
M	2	1	7.5	92.5
M	4	1	9.6	102.2
M	6	1	10.4	92.5
M	8	1	10.7	94.9
M	10	1	10.3	82.8
M	12	1	10	83.7
O	0	1	8.2	101.2
O	2	1	9.3	129.8
O	4	1	10.8	123.2
O	6	1	11.8	117.2
O	8	1	12.2	115
O	10	1	12.2	112
O	12	1	11.8	118.4
P	0	1	5	47.9
P	2	1	6.4	58.4
P	4	1	8.5	66
P	6	1	9.4	57.1
P	8	1	8.8	60.6
P	10	1	8.6	50
P	12	1	8.4	48.5
Q	0	1	8.2	103.3
Q	2	1	9.5	121.2
Q	4	1	11.2	127.1
Q	6	1	12.5	124
Q	8	1	12.6	125
Q	10	1	11.7	111.2
Q	12	1	11.9	152.5

**ANNEXE 13 : Résultats de l'étude de l'effet des cycles de congélation/décongélation dans le plasma hépariné** (Cycles= nombres de cycles de congélation/décongélation subis par l'échantillon de plasma hépariné)

CHAT	CYCLES	GLUCOSE (mmol/L)	UREE (mmol/L)	CREATININE ( $\mu$ mol/L)	SODIUM (mmol/L)	POTASSIUM (mmol/L)	CHLORE (mmol/L)	CO <sub>2</sub> (mmol/L)
A	0	3.97	7.4	106.4	156	3.4	122	19
C	0	4.84	6.4	110.9	157	3.4	122	18
D	0	4.37	6.7	101.2	160	3.2	124	17
F	0	4.24	8.3	148.5	157	3.6	125	18
G	0	4.13	7.1	93.6	156	3.7	126	17
P	0	4.37	6.8	75.4	160	3.5	123	18
A	1	3.94	7.2	106	155	3.4	123	19
C	1	4.86	6.4	108.2	155	3.4	122	19
D	1	4.41	6.9	100.3	159	3.2	125	16
F	1	4.25	8.4	143.3	158	3.7	125	17
G	1	4.14	7.2	92.8	156	3.7	126	17
P	1	4.37	6.9	75.5	159	3.6	122	18
A	2	3.94	7.3	105.8	155	3.4	124	18
C	2	4.93	6.5	113.7	156	3.7	123	18
D	2	4.34	6.8	101.2	160	3.2	125	16
F	2	4.25	8.4	149	158	3.7	126	17
G	2	4.25	7.1	92.5	156	3.7	126	17
P	2	4.39	6.8	76.4	160	3.6	122	17
A	3	4.05	7.1	106.5	156	3.4	124	18
C	3	5.08	6.3	111.3	155	3.8	123	18
D	3	4.56	6.8	101.4	160	3.2	125	16
F	3	4.4	8.2	145.7	157	3.8	125	18
G	3	4.49	7.2	92.8	154	3.7	126	17
P	3	4.55	6.9	77	159	3.5	123	17
A	4	4.07	7.2	105.3	155	3.4	124	19
C	4	5.07	6.2	111.6	154	3.8	123	17
D	4	4.56	6.7	101	161	3.2	123	17
F	4	4.43	8.3	144.9	156	3.7	125	17
G	4	4.43	7.1	93.2	155	3.7	126	16
P	4	4.54	6.7	77	159	3.5	122	17

CHAT	CYCLES	CALCIUM (mmol/L)	PHOSPHATE (mmol/L)	PROTEINES (g/L)	ALBUMINE (g/L)	ALAT (U/L)	PAL (U/L)
A	0	2.33	1.3	61.4	28.3	50	33
C	0	2.41	1.21	71.7	32	50	22
D	0	2.46	1.41	70.5	31.9	46	23
F	0	2.44	1.11	65.9	30.2	48	21
G	0	2.36	1.29	60.5	27.3	46	19
P	0	2.47	1.35	69.7	34.4	46	41
A	1	2.35	1.3	60	28.3	56	31
C	1	2.42	1.21	71.1	32	55	23
D	1	2.48	1.41	69	32.1	52	24
F	1	2.45	1.1	64.3	30.1	52	22
G	1	2.39	1.29	58.5	26.9	50	19
P	1	2.5	1.35	69.4	34.3	47	40
A	2	2.31	1.3	59.6	28.8	54	31
C	2	2.43	1.23	71.7	32.7	52	23
D	2	2.48	1.41	69.2	32.3	52	22
F	2	2.46	1.1	63.8	30.6	51	21
G	2	2.35	1.29	58.3	26.5	48	18
P	2	2.51	1.36	69.6	34.7	51	42
A	3	2.32	1.29	60	28.6	51	30
C	3	2.44	1.22	71.9	32.7	52	24
D	3	2.49	1.41	69	32.1	52	23
F	3	2.47	1.1	63.7	30.4	50	21
G	3	2.34	1.27	57.9	26.3	48	18
P	3	2.48	1.35	68.4	34.7	45	40
A	4	2.35	1.29	58.9	29	49	30
C	4	2.44	1.23	71.9	33.1	54	22
D	4	2.52	1.41	67.6	32.6	48	24
F	4	2.43	1.1	63.8	30.3	47	22
G	4	2.36	1.28	58.4	26.8	45	19
P	4	2.5	1.36	68.8	35.3	46	41

**ANNEXE 14 : Résultats de l'étude de l'effet des cycles de congélation/décongélation dans le sérum**

CHAT	CYCLES	GLUCOSE (mmol/L)	UREE (mmol/L)	CREATININE ( $\mu$ mol/L)	SODIUM (mmol/L)	POTASSIUM (mmol/L)	CHLORE (mmol/L)	CO <sub>2</sub> (mmol/L)
A	0	3.8	7.3	107.2	156	3.8	123	20
C	0	4.67	6.6	110	156	3.8	122	19
D	0	4.28	6.9	103.7	161	3.9	125	17
F	0	3.97	8.4	145.5	158	4.4	125	18
G	0	3.87	7.2	94.7	157	4.2	126	17
P	0	4.42	6.9	75.7	159	4.4	123	17
A	1	3.79	7.4	104.4	156	3.8	123	19
C	1	4.69	6.4	110.1	156	3.8	122	19
D	1	4.27	6.8	101.8	160	3.9	124	17
F	1	4.02	8.2	145.7	158	4.4	124	17
G	1	3.85	7.2	91.9	155	4.2	125	17
P	1	4.52	6.8	77	160	4.5	124	16
A	2	3.75	7.3	106.7	154	3.8	124	18
C	2	4.71	6.4	111.3	154	3.8	122	18
D	2	4.24	6.9	102	158	3.8	125	15
F	2	4.04	8.3	147.7	156	4.4	125	17
G	2	3.86	7.1	94.9	157	4.2	126	17
P	2	4.21	6.7	76.4	158	4.2	122	17
A	3	3.9	7.3	107.6	156	3.9	123	19
C	3	4.81	6.4	110.7	156	3.7	121	18
D	3	4.35	6.8	101	161	3.7	124	17
F	3	4.13	8.4	146.6	157	4.5	125	17
G	3	4.07	7.2	94	157	4.1	126	16
P	3	4.25	6.8	76.1	159	4.1	122	19
A	4	3.93	7.3	106.7	156	3.9	123	20
C	4	4.82	6.3	113.2	156	3.7	122	17
D	4	4.43	6.8	101.6	162	3.7	125	16
F	4	4.11	8.3	145	157	4.5	124	18
G	4	4.08	7.1	93	156	4.1	126	17
P	4	4.26	6.8	76	158	4.1	121	18

CHAT	CYCLES	CALCIUM (mmol/L)	PHOSPHATE (mmol/L)	PROTEINES (g/L)	ALBUMINE (g/L)	ALAT (U/L)	PAL (U/L)
A	0	2.34	1.35	60.5	29.2	56	33
C	0	2.43	1.28	70.4	32.5	56	25
D	0	2.5	1.51	69.6	33.4	55	25
F	0	2.44	1.18	65.2	30.7	53	25
G	0	2.34	1.36	59.9	27.8	54	19
P	0	2.52	1.39	70.1	36.6	60	43
A	1	2.35	1.34	60.1	28.9	60	33
C	1	2.46	1.28	69.5	32.6	59	24
D	1	2.52	1.52	69.1	33	59	27
F	1	2.45	1.19	64	30.8	56	22
G	1	2.36	1.38	58.6	27.1	54	20
P	1	2.55	1.41	69.7	36.6	61	43
A	2	2.33	1.36	60.3	28.7	56	32
C	2	2.48	1.29	71.4	32.5	59	22
D	2	2.54	1.53	69.7	32.9	58	25
F	2	2.47	1.2	64.4	30.6	56	21
G	2	2.36	1.38	59.4	27.3	55	18
P	2	2.56	1.42	69.2	35.4	62	42
A	3	2.32	1.34	60.8	28.7	56	33
C	3	2.45	1.28	71.3	32.6	57	24
D	3	2.48	1.5	69.1	32.5	55	25
F	3	2.44	1.2	64.8	30.3	53	23
G	3	2.33	1.37	58.5	26.9	53	19
P	3	2.5	1.42	68.7	35	57	43
A	4	2.35	1.35	59.7	28.9	54	33
C	4	2.47	1.29	71	32.5	54	25
D	4	2.55	1.52	69.6	33.4	54	26
F	4	2.44	1.2	64.6	30.5	51	24
G	4	2.32	1.37	58.5	26.8	52	19
P	4	2.51	1.43	68.7	35.2	57	43

**ANNEXE 15 : Résultats de l'étude de l'effet de l'hémolyse**

CHAT	HEMOGLOBINE (mmol/L)	GLUCOSE (mmol/L)	UREE (mmol/L)	CREATININE (μmol/L)	SODIUM (mmol/L)	POTASSIUM (mmol/L)
A	0	4.38	7.1	115.3	155	3.6
A	0.0621	4.4	7.2	113.2	156	3.6
A	0.1242	4.38	7.3	111.4	155	3.6
A	0.1863	4.42	7.1	109.7	154	3.7
A	0.3105	4.55	7.2	104.6	156	3.8
A	0.9936	5.64	7.8	96.4	154	4.4
C	0	4.88	6.2	110.5	156	3.6
C	0.0621	4.87	6.2	109.1	155	3.7
C	0.1863	4.82	6.3	102.9	154	3.8
C	0.2484	4.95	6.3	99.4	155	4
C	0.9936	6	6.7	92.3	154	5
D	0	4.3	6.8	109.7	158	3.3
D	0.0621	4.22	6.9	106.7	160	3.4
D	0.1863	4.18	6.8	102.8	158	3.3
D	0.3105	4.31	7	99.2	159	3.4
D	0.8073	4.56	7.2	85.9	157	3.5
D	1.5525	4.64	7.1	86	157	3.6
F	0	4.72	7.8	144.3	158	4
F	0.1242	4.66	7.8	143	157	4
F	0.1863	4.65	7.9	138.8	157	4
F	0.3105	4.82	8	131.7	157	4
F	0.5589	5.11	8.2	120.6	158	4.1
F	0.9936	5.48	8.2	115.9	156	4.2
G	0	4.37	7.3	97.8	157	3.6
G	0.1242	4.33	7.3	96	156	3.7
G	0.1863	4.33	7.5	94	157	3.7
G	0.3105	4.47	7.5	89.4	156	3.7
G	0.621	4.91	7.9	80.1	157	3.8
G	1.1799	5.21	7.8	75.7	156	3.9
P	0.0621	4.74	6.4	85.6	160	3.3
P	0.1863	4.64	6.3	80.5	158	3.2
P	0.3105	4.82	6.7	74.8	159	3.4
P	0.621	5.17	6.7	70.9	158	3.2
P	1.0557	5.64	6.8	73.1	158	3.6

CHAT	HEMOGLOBINE (mmol/L)	CHLORE (mmol/L)	CO <sub>2</sub> (mmol/L)	CALCIUM (mmol/L)	PHOSPHATE (mmol/L)	PROTEINES (g/L)
A	0	125	19	2.32	1.18	60.5
A	0.0621	126	18	2.3	1.21	63.4
A	0.1242	125	20	2.29	1.21	63.6
A	0.1863	124	19	2.27	1.24	66.2
A	0.3105	124	19	2.23	1.27	70.7
A	0.9936	123	18	2.11	1.52	100.6
C	0	124	18	2.36	1.06	72.2
C	0.0621	124	16	2.35	1.07	72.9
C	0.1863	123	17	2.32	1.13	77.6
C	0.2484	123	17	2.28	1.17	82.4
C	0.9936	123	13	2.15	1.49	115.7
D	0	125	19	2.36	1.22	65.6
D	0.0621	125	20	2.37	1.22	68.2
D	0.1863	125	20	2.34	1.24	70.3
D	0.3105	126	17	2.35	1.3	77
D	0.8073	124	20	2.25	1.37	86.3
D	1.5525	124	20	2.26	1.38	92.1
F	0	127	17	2.41	1.05	64.6
F	0.1242	126	17	2.42	1.07	67.2
F	0.1863	127	17	2.39	1.1	70.5
F	0.3105	125	17	2.37	1.13	76.2
F	0.5589	126	16	2.33	1.2	86.7
F	0.9936	125	16	2.27	1.28	98.5
G	0	127	17	2.31	1.35	60.4
G	0.1242	127	18	2.29	1.36	62.7
G	0.1863	127	18	2.29	1.39	67.6
G	0.3105	127	18	2.26	1.43	72.6
G	0.621	127	16	2.26	1.53	85.6
G	1.1799	126	17	2.2	1.61	97.7
P	0.0621	124	17	2.41	1.41	64.6
P	0.1863	123	18	2.42	1.44	69
P	0.3105	123	16	2.38	1.5	76.5
P	0.621	124	15	2.35	1.58	88.8
P	1.0557	122	14	2.26	1.72	106.4

CHAT	HEMOGLOBINE (mmol/L)	ALBUMINE (g/L)	ALAT (U/L)	PAL (U/L)
A	0	28.6	49	34
A	0.0621	29.9	51	24
A	0.1242	30.3	53	19
A	0.1863	31.9	54	12
A	0.3105	35.3	58	9
A	0.9936	56.6	59	9
C	0	31.7	52	29
C	0.0621	32.4	49	27
C	0.1863	35.4	51	12
C	0.2484	38.7	54	9
C	0.9936	61.7	64	9
D	0	28.5	41	30
D	0.0621	29.1	46	15
D	0.1863	30.8	50	9
D	0.3105	35	67	9
D	0.8073	41.8	82	9
D	1.5525	42.5	81	9
F	0	30.6	52	23
F	0.1242	31.6	54	11
F	0.1863	33.6	55	9
F	0.3105	37.3	55	9
F	0.5589	45.1	55	9
F	0.9936	54	55	9
G	0	26.4	40	20
G	0.1242	27.6	41	9
G	0.1863	30.3	43	9
G	0.3105	33.9	46	9
G	0.621	42.8	56	9
G	1.1799	50.7	59	9
P	0.0621	32	45	41
P	0.1863	34.9	58	24
P	0.3105	39.2	74	15
P	0.621	48.2	94	9
P	1.0557	61.2	130	9

**AGREMENT SCIENTIFIQUE**

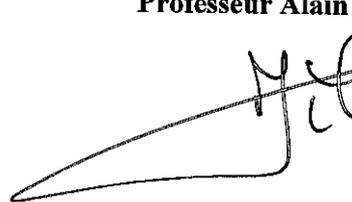
**En vue de l'obtention du permis d'imprimer de la thèse de doctorat vétérinaire**

Je soussigné, **Hervé LEFBVRE**, Enseignant-chercheur, de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse, directeur de thèse, certifie avoir examiné la thèse de **BROSSE Claire** intitulée « *Variables plasmatiques chez le chat sain : effet des conditions de stockage du spécimen, de l'anticoagulant, de l'hémolyse, du moment de prélèvement et du repas.* » et que cette dernière peut être imprimée en vue de sa soutenance.

Fait à Toulouse, le 26 novembre 2013  
Professeur Hervé LEFBVRE  
Enseignant chercheur  
de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse



Vu :  
Le Directeur de l'Ecole Nationale  
Vétérinaire de Toulouse  
Professeur Alain MILON

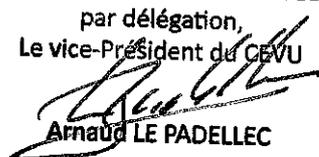

Vu :  
Le Président du jury :  
Professeur Jacques POURRAT



Professeur Jacques POURRAT  
Professeur des Universités - Praticien Hospitalier  
SERVICE DE NEPHROLOGIE ET IMMUNOLOGIE CLINIQUE  
CHU TOULOUSE - Hôpital RANGUEIL  
1, avenue Jean Poulhès  
TSA 50032 - 31059 TOULOUSE Cedex 0  
Fax 05 61 32 27 79

Vu et autorisation de l'impression :  
Le Président de l'Université  
Paul Sabatier  
Professeur Bertrand MONTHUBERT



Le Président de l'Université Paul Sabatier  
par délégation,  
Le vice-Président du CEVU  
  
Arnaud LE PADELLEC

Mlle **BROSSE Claire**  
a été admis(e) sur concours en : 2008  
a obtenu son diplôme d'études fondamentales vétérinaires le : 21/06/2012  
a validé son année d'approfondissement le : 27/06/2013  
n'a plus aucun stage, ni enseignement optionnel à valider.

Toulouse, 2013

NOM: BROSSE

Prénom: Claire

TITRE: Variables plasmatiques chez le chat sain : effet des conditions de stockage du spécimen, de l'anticoagulant, de l'hémolyse, du moment de prélèvement et du repas.

RÉSUMÉ: Les principaux facteurs de variation préanalytique des variables biochimiques plasmatiques ont été évalués chez plusieurs chats cliniquement sains. Cette étude a comporté 7 expérimentations distinctes réalisées chacune sur 6 à 11 chats. Les résultats biochimiques obtenus sur sérum et plasma hépariné sont similaires. Le plasma prélevé sur EDTA convient pour doser tous les analytes sauf le calcium, le potassium et les phosphatases alcalines (PAL). Le plasma citraté n'est approprié que pour doser l'albumine, l'alanine aminotransferase (ALAT) et les PAL. L'hémolyse affecte les concentrations des variables plasmatiques à des degrés divers (glucose, urée, sodium, chlore, CO<sub>2</sub> et calcium sont peu affectés). Les concentrations de glucose, de potassium, de chlore, de phosphate et de CO<sub>2</sub> sont instables dans le sang total hépariné conservé à température ambiante. Sa réfrigération permet une bonne conservation de tous les analytes jusqu'à 7 jours à l'exception du glucose dont la concentration plasmatique est modifiée après 24 à 48 heures. La concentration de toutes les variables testées est stable pendant 7 jours dans le plasma hépariné conservé à température ambiante ou à 4°C. Aucune variable biochimique n'est affectée par 4 cycles de congélation-décongélation du sérum ou du plasma hépariné. Seules les concentrations de CO<sub>2</sub> et d'ALAT sont sensiblement modifiées par un stockage du sérum ou du plasma hépariné à -20°C pendant 12 mois. L'urée, la créatinine et le CO<sub>2</sub> montrent des variations circadiennes diurnes notables. Leur profil plasmatique, ainsi que celui du sodium, est en outre particulièrement modifié par la prise d'un repas.

MOTS-CLÉS: Biologie médicale, chat, créatinine, électrolytes, glucose, plasma, protéines, sérum

---

ENGLISH TITLE: Plasma variables in healthy cats: effect of storage, anticoagulant, hemolysis, collection time and meal.

ABSTRACT: The main preanalytical factors of variation of plasma analytes were evaluated in several clinically healthy cats. This study consisted of 7 distinct experiments, each performed in 6 to 11 cats. The biochemical results obtained on serum and heparinized plasma are similar. Plasma collected with EDTA is suitable for all analytes except calcium, potassium, and alkaline phosphatase (ALP). Citrated plasma is appropriate for measuring only albumin, alanine aminotransferase (ALT) and the ALP. Hemolysis affects the concentrations of plasma variables to various extent (glucose, urea, sodium, chloride, CO<sub>2</sub> and calcium are little affected). The concentrations of glucose, potassium, chloride, phosphate and CO<sub>2</sub> are unstable in total heparinized blood stored at room temperature. Its refrigeration allows conservation of all analytes up to 7 days with the exception of glucose whose plasma concentration is altered after 24 to 48 hours of storage. The concentration of all tested variables is stable for 7 days in heparinized plasma stored at room temperature or at 4°C. There is no biochemical variables affected with 4 cycles of freezing and thawing of serum or heparinized plasma. Only concentrations of CO<sub>2</sub> and ALT are significantly affected by storage of serum or plasma at -20°C for 12 months. Urea, creatinine and CO<sub>2</sub> show significant diurnal circadian variations. Their plasma profile, as well as that of sodium is, also particularly altered by the meal intake.

KEYWORDS: Cat, clinical chemistry, creatinine, electrolytes, glucose, plasma, protein, serum.