

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	7
TABLE DES ILLUSTRATIONS	9
INTRODUCTION	10
PREMIERE PARTIE : MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE	11
1.1.Généralités sur le potassium	11
1.1.1.Répartition	11
1.1.2.Apports et métabolisme	12
1.1.3.Kaliémie et variations chez les bovidés, ovidés et équidés	13
1.2.Conséquences sur les résultats de l'analyse en fonction de l'utilisation de sang total ou de plasma	14
1.2.1.Utilisation de plasma	14
1.2.2.Différences entre sang total et plasma en utilisant la méthode de potentiométrie	14
1.2.3.Différences entre sang total et plasma en utilisant la méthode de spectrométrie	15
1.3.La technique de dosage du potassium à l'aide du Reflovet	15
1.3.1.Principe	15
1.3.2.Utilisation	16
1.3.3.Validation de la technique	16
1.3.4.Facteurs influençant le dosage du potassium	16
1.3.5.Evaluation <i>a priori</i> des différences entre sang total et plasma en utilisant le Reflovet plus	17
DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES	19
2.1.Specimens sanguins : collecte et stockage	19
2.2.Analyses	19
2.2.1.Préalable aux analyses	19
2.2.2.Techniques d'analyse	20
2.2.3.Méthodes de comparaison des techniques	21

TROISIEME PARTIE : RESULTATS	22
3.1.Chez les bovins	22
3.1.1.Mesure de la kaliémie dans le plasma	22
3.1.2.Mesure de la kaliémie dans le sang total	22
3.1.3.Comparaison des mesures de la kaliémie en utilisant du sang total et du plasma	22
3.2.Chez les ovins	27
3.2.1.Mesure de la kaliémie dans le plasma	27
3.2.2.Mesure de la kaliémie dans le sang total	27
3.2.3. Comparaison des mesures de la kaliémie en utilisant du sang total et du plasma	27
3.3.Chez les équins	32
3.3.1. Mesure de la kaliémie dans le plasma	32
3.3.2. Mesure de la kaliémie dans le sang total	32
3.3.3. Comparaison des mesures de la kaliémie en utilisant du sang total et du plasma	32
QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION	37
4.1.Qualité <i>a priori</i> de la technique analytique	37
4.2.Nature de l'échantillon analysé	37
4.3.Influence de l'hémolyse	38
4.4.Influence de l'hématocrite	38
4.5.Comparaison des techniques de mesure de la kaliémie à l'aide de sang total et de plasma	39
4.5.1.Chez les bovins	39
4.5.2.Chez les ovins	39
4.5.3.Chez les équins	39
CONCLUSION	41
LISTE DE REFERENCES	42
ANNEXES	46

TABLE DES ILLUSTRATIONS

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Statistiques descriptives de la mesure de la kaliémie dans le sang total hépariné et le plasma correspondant et de la mesure sang-plasma (Sg-P) dans 102 spécimens de bovins.

Tableau 2 : Nombre de cas individuels où la différence (Sang total – Plasma) pour la mesure de la kaliémie a été comprise dans les intervalles (différence moyenne \pm 0,2 mmol/L) et (différence moyenne \pm 0,4 mmol/L), chez le cheval, la vache et le mouton (n = nombre de cas totaux).

Tableau 3 : Statistiques descriptives de la mesure de la kaliémie dans le sang total hépariné et le plasma correspondant et de la mesure sang-plasma (Sg-P) dans 98 spécimens d'ovins.

Tableau 4 : Statistiques descriptives de la mesure de la kaliémie dans le sang total hépariné et le plasma correspondant et de la mesure sang-plasma (Sg-P) dans 98 spécimens d'équins.

TABLE DES FIGURES

Figure 1 : Nuage de points représentant l'agrément de la mesure de la kaliémie dans le sang total hépariné et le plasma correspondant pour 102 spécimens de bovins.

Figure 2 : Diagramme des différences (Sg-P)-Potassium en fonction de la concentration dans le plasma dans 102 spécimens de bovins.

Figure 3 : Distribution des différences (Sg-P) dans 102 spécimens de bovins.

Figure 4 : diagramme des différences (Sg-P)-Potassium (mmol/l) en fonction de la valeur de l'hématocrite (L/L) pour 102 spécimens de bovins.

Figure 5 : Nuage de points représentant l'agrément de la mesure de la kaliémie dans le sang total hépariné et le plasma correspondant pour 98 spécimens d'ovins.

Figure 6 : Diagramme des différences (Sg-P)-Potassium en fonction de la concentration dans le plasma dans 98 spécimens d'ovins.

Figure 7 : Distribution des différences (Sg-P) 98 spécimens sanguins d'ovins.

Figure 8 : diagramme des différences (Sg-P)-Potassium (mmol/l) en fonction de la valeur de l'hématocrite (L/L) pour 98 spécimens d'ovins.

Figure 9 : Nuage de points représentant l'agrément de la mesure de la kaliémie dans le sang total hépariné et le plasma correspondant pour 98 spécimens d'équins.

Figure 10 : Diagramme des différences (Sg-P)-Potassium en fonction de la concentration dans le plasma dans 98 spécimens d'équins.

Figure 11 : Distribution des différences (Sg-P) 98 spécimens d'équins.

Figure 12 : diagramme des différences (Sg-P)-Potassium (mmol/l) en fonction de la valeur de l'hématocrite (L/L) pour 98 spécimens d'équins.

INTRODUCTION

La mesure de la kaliémie est l'une des analyses de biologie médicale entrant dans le cadre de l'urgence, que ce soit en médecine humaine ou en médecine vétérinaire.

Dans la plupart des cliniques vétérinaires, on ne dispose pas d'analyseur permettant une mesure rapide et fiable de l'ionogramme mais certaines cliniques sont équipées d'un Reflovet qui permet le dosage de nombreux constituants sanguins sur le sang total hépariné et, selon les recommandations du fabricant, du potassium exclusivement sur sérum et plasma.

Des résultats antérieurs ont montré que chez le chien, les mesures pouvaient également être effectuées sur du sang total (39), ce qui permet d'éviter les étapes de centrifugation et de séparation du plasma et par conséquent de gagner du temps. Cela résulte du fait que les hématies du chien ne renferment que peu de potassium susceptible d'interférer lors de la mesure.

Il était donc tentant de valider si une approche similaire était possible dans d'autres espèces, en pratique le cheval, la vache et le mouton. Le présent manuscrit rapporte donc les informations qui ont été collectées dans la littérature, le protocole expérimental d'un essai comparatif de mesure de la kaliémie dans le sang total et le plasma correspondant, les résultats obtenus et les conclusions que l'on peut en retenir au plan pratique.

PREMIERE PARTIE :MISE AU POINT BIBLIOGRAPHIQUE

1.1 .Généralités sur le potassium

Le potassium K (masse atomique=39) est le principal cation du milieu intracellulaire. Il est indispensable à de nombreux processus physiologiques, en particulier à l'établissement des potentiels membranaires et donc à l'excitabilité des cellules.

1.1.1.Répartition

1.1.1.1.Dans l'organisme

Le potassium est réparti de la manière suivante dans l'organisme : 90% intracellulaire, 7 à 8% stockés dans l'os et 2 à 3% dans le secteur extracellulaire (24). La grande majorité du potassium est donc situé dans le compartiment intracellulaire.

1.1.1.2.Différences entre les milieux extra et intracellulaire

Le potassium est l'ion majeur du secteur intracellulaire. Le pool extracellulaire étant très limité, la kaliémie, qui reflète la concentration du potassium dans ce compartiment, n'est qu'un assez mauvais témoin de la quantité totale de l'ion dans l'organisme (36).

Cette distribution de l'ion potassium résulte de l'action des Na/K ATP-ases membranaires, qui pour chaque molécule d'ATP hydrolysée entraîne la sortie de trois ions sodium et l'entrée de deux ions potassium dans la cellule. Le potentiel membranaire en résultant permet l'excitabilité des cellules cardiaques et neuromusculaires (5).

Une hypokaliémie entraîne une augmentation du potentiel de membrane, produisant un bloc d'hyper-polarisation aboutissant à un affaiblissement musculaire pouvant aller jusqu'à la paralysie (27).

Une hyperkaliémie diminue le potentiel de membrane entraînant une hyperexcitabilité des cellules (27).

1.1.1.3.Particularités des globules rouges

La concentration intra érythrocytaire en potassium varie en fonction des espèces. Chez l'Homme, elle est de l'ordre de 102 mmol/l \pm 3,9 (7); chez le cheval 120 mmol/l \pm 11,1; chez les bovins de 22 mmol/l \pm 4,5 (6, 13). Chez le mouton, on rencontre deux types d'animaux qui diffèrent pour la concentration intra érythrocytaire en potassium (34). Il y a des animaux High Potassium (HK) chez qui la concentration moyenne est voisine de 100 mmol/l et des animaux Low Potassium (LK) avec une concentration voisine de 40 mmol/l (40). Cependant, la kaliémie de ces animaux ne diffère pas, et est très voisine de celle de l'homme et du chien. Le déterminisme de la concentration en potassium des érythrocytes est sous contrôle génétique : il existe une seule paire d'allèles, l'allèle HK étant récessif par rapport à l'allèle LK (10).

1.1.2.Apports et métabolisme

1.1.2.1.Apports

Le potassium est présent en quantité relativement importante dans la plupart des aliments consommés par les animaux carnivores. Les végétaux verts et les fourrages sont des sources abondantes de potassium pour les herbivores si ils ont été bien conservés. En raison de la forte quantité de salive sécrétée par les ruminants, une partie notable de l'apport est un recyclage de potassium prélevé par les glandes salivaires dans le plasma. Ainsi une carence alimentaire en potassium n'est-elle pas une cause fréquente d'hypokaliémie.

1.1.2.2.Métabolisme

La plus grande partie du potassium d'origine alimentaire est absorbée dans l'intestin grêle et le colon. 90% de l'apport quotidien est excrétée par le rein (14). C'est dans le segment distal du néphron qu'a lieu l'élimination du potassium (tube collecteur cortical). L'aldostérone est la plus importante hormone affectant la régulation de l'élimination du potassium : sa sécrétion par la corticosurrénale est directement stimulée par l'hyperkaliémie (et l'angiotensine II). Il en résulte une augmentation de la réabsorption du sodium et une excrétion de K^+ et de protons. Cependant, le rein n'est pas très efficace pour réguler son excrétion et garder le potassium dans l'organisme en cas de déficit (35).

1.1.3.Kaliémie et variations chez les bovidés, ovidés et équidés

1.1.3.1.Valeurs usuelles de la kaliémie

Les intervalles de valeurs usuelles de la kaliémie chez les équidés, ovidés et bovidés sont respectivement les suivantes : 2,6-5,0 mmol/l ; 3,9-5,4 mmol/l et 3,9-5,8 mmol/l (7, 18).

1.1.3.2.Variations physiologiques chez l'animal à l'exercice

Chez le cheval, il a été montré qu'il existe une augmentation progressive de la concentration en potassium dans le plasma au cours de l'exercice (11, 12). De plus, cette augmentation est proportionnelle à l'intensité de l'exercice (certains animaux dépassaient 10mmol/l à la fin de l'exercice). Les pics de concentration sont obtenus à la fin de l'effort, il existe une corrélation forte entre le pic de potassium et celui de lactate (12). Le potassium est libéré par les cellules musculaires au travail dans le secteur extracellulaire au cours de la contraction.

Chez les bovins, le même phénomène a été mis en évidence lors de la traction de charges croissantes (20). Cependant, ce phénomène est moins marqué que chez le cheval. On observe une augmentation de 63% de la kaliémie lors des exercices les plus soutenus (20). Chez l'Homme, pour des travaux équivalents, on observe une augmentation de l'ordre de 40% (19, 22). Dans tous les cas, après un repos de dix minutes la kaliémie revient à sa valeur basale (20).

1.1.3.3.Variations pathologiques de la kaliémie

1.1.3.3.1.L'hypokaliémie

L'hypokaliémie peut résulter d'une carence des réserves de l'organisme ou d'une redistribution du potassium depuis le secteur extracellulaire vers le compartiment intracellulaire. Les causes les plus fréquentes sont une baisse des apports et de l'absorption, ou des pertes importantes à partir du tractus gastro-intestinal, par exemple lors d'indigestion vagale, d'iléus ou de diarrhée.

Une perte excessive de potassium par le rein peut être due à un excès de minéralocorticoïdes, à certains diurétiques ou à une altération de la fonction rénale, comme lors d'acidose tubulaire rénale chez le cheval.

Une hypokaliémie sans carence en potassium associée peut être due à une alcalose aigüe ou à l'administration d'insuline ou de glucose (3).

1.1.3.3.2.L'hyperkaliémie

L'hyperkaliémie peut résulter d'une rétention rénale dans la maladie d'Addison chez le cheval ou d'un arrêt de la fonction rénale.

Elle est souvent associée à une acidose métabolique, particulièrement lorsqu'elle est due à une déshydratation et est compliquée par un arrêt de la fonction rénale.

Une « fausse » hyperkaliémie peut se développer *in vitro* à cause d'une hémolyse ou de la libération du potassium par les globules rouges, lors du stockage du prélèvement sous forme de sang total (3).

1.2.Conséquences sur les résultats de l'analyse en fonction de l'utilisation de sang total ou de plasma

1.2.1.Utilisation de plasma

On peut utiliser du plasma hépariné ou du sérum pour doser le potassium cependant tous les anticoagulants contenant du potassium doivent être prohibés, en particulier EDTA-K₂. La concentration dans le sérum dépasse celle du plasma d'environ 0,4 mmol/l. Cette différence résulte de la libération du potassium par les cellules sanguines pendant la coagulation. Ainsi, le plasma hépariné est-il le spécimen de choix pour mesurer la concentration sanguine en potassium (41).

Le fabricant du Reflovet recommande d'utiliser du plasma pour doser le potassium, avec son appareil (25).

1.2.2.Différences entre sang total et plasma en utilisant la méthode de potentiométrie

Une étude a comparé l'utilisation de sang total et de plasma avec un système de mesure à électrodes spécifiques (21). Cette étude, réalisée chez l'homme, a montré que sur deux cent sept spécimens il n'y avait pas de différence significative entre le sang total et le plasma. L'auteur conclut que l'on peut utiliser du sang total avec cet appareil pour doser le potassium.

Une étude similaire, toujours chez l'homme, trouve cette fois une différence significative entre le sang total et le plasma. Cependant, l'auteur conclut que ces différences sont cliniquement faibles (2).

1.2.3. Différences entre sang total et plasma en utilisant la méthode de spectrométrie

En médecine humaine, il a été établi qu'il n'existe pas de différence statistiquement significative entre le sang total et le plasma en utilisant la méthode de dosage potassium par spectrophotométrie (42).

1.3 .La technique de dosage du potassium à l'aide du Reflovet

1.3.1.Principe

Le Reflotron utilise le principe d'une réaction colorée couplée à la réaction spécifique des ions K à la valomycine.

Un échantillon de 32 µl est déposé sur la mèche protectrice de la bandelette. L'échantillon est ensuite transporté via deux différentes couches en fibre de verre (la couche séparatrice et la couche transporteuse) vers la zone réactive, en dessous de la partie articulée. Tous les réactifs nécessaires pour détecter le potassium sont contenus dans cette zone réactive (film indicateur) (26).

Toutes les réactions chimiques se déroulent dans cette zone réactive, dans une combinaison de deux phases :une non polaire, insoluble dans l'eau et une phase aqueuse. La phase non polaire contient la valomycine, qui joue le rôle de transporteur de potassium, un indicateur de pH et un acide organique.

L'ion potassium est échangé avec un proton lié à la valomycine. Ce dernier est alors fixé par un indicateur de pH dont la coloration change lors de la protonation (26).

L'intensité du changement de couleur de l'indicateur coloré est proportionnelle à la concentration en potassium de l'échantillon. Elle est mesurée par photométrie de réflectance à 642 nm (26).

1.3.2.Utilisation

On glisse la bandelette dans la chambre de mesure le long d'une glissière mobile : le transporteur. Une fois le couvercle de la chambre de mesure abaissé, la bandelette est déplacée en position de mesure. La réaction est alors déclenchée, il faut attendre quatre-vingt dix secondes pour obtenir le résultat. Le domaine de mesure est compris entre 2 et 12 mmol/l (25).

1.3.3.Validation de la technique

La technique de dosage du potassium à l'aide du Reflotron a été validée en médecine humaine (29, 30, 32, 38). Une étude réalisant une comparaison entre la méthode de référence (spectrométrie d'émission de flamme) et le Reflotron sur du sérum et du plasma hépariné a montré que le Reflotron est précis et exact pour la détermination de la kaliémie (26).

Le Reflotron montre une réponse linéaire dans l'intervalle de concentration :2 à 12 mmol/l.

En médecine vétérinaire, une étude a montré l'exactitude et la précision du Reflotron pour doser le potassium dans le plasma chez les bovidés, ovidés et équidés. Dans ce but, le Reflotron a été comparé à la méthode ISE (appareil Beckman E2A). Les résultats montrent une corrélation forte entre les deux techniques, le coefficient de variation d'un jour à l'autre était inférieur à 2,5% (4).

1.3.4.Facteurs influençant le dosage du potassium

1.3.4.1.La température

Des variations de la concentration en potassium peuvent avoir lieu pendant le stockage du prélèvement sous forme de sang total. La température est un facteur déterminant pouvant entraîner cette augmentation (28).

Chez l'homme, il a été établi de manière expérimentale qu'au cours d'un stockage de vingt quatre heures les plus petites variations de la kaliémie ont lieu pour une température de 22 à 24°C. Les plus grandes variations sont observées à 3 et 38°C (24).

Chez le cheval, une étude a montré qu'il n'y a pas de variations significatives de la concentration en potassium pour du sérum stocké quatre jours à 20-22°C. La même

expérience en stockant du sang total a montré une augmentation de 48% de la kaliémie en quatre jours (9).

1.3.4.2. Constituants biochimiques

Une étude expérimentale a montré à l'aide de sérum de bovins, de chiens et de chats que le dosage du potassium n'est pas affecté par la lipémie, quelle que soit son intensité. Il est par contre affecté par la présence de bilirubine ou d'hémoglobine (respectivement 200 $\mu\text{mol/l}$ et plus de 2 g/l) (16).

1.3.4.3. Influence de l'hémolyse en biologie médicale humaine

L'hémolyse est la libération de constituants intracellulaires depuis les érythrocytes, thrombocytes et leucocytes vers le milieu extracellulaire, c'est-à-dire le plasma ou le sérum. Elle est visible à l'œil nu dans les échantillons non ictériques quand la concentration en hémoglobine dépasse 300 mg/l car elle colore alors le plasma en rouge (37).

Il existe deux types d'hémolyse : *in vitro* et *in vivo*. Une étude a montré chez l'homme que seulement 3,2% des hémolyses observées au laboratoire avaient lieu *in vivo* (37). De plus, chez l'homme une hémolyse *in vitro* entraîne une augmentation de la kaliémie alors qu'une hémolyse *in vivo* non (8).

La kaliémie est augmentée même si l'hémolyse survenue *in vitro* n'est pas visible à l'œil nu. L'hémolyse peut avoir lieu à différents moments : pendant la prise de sang si l'aspiration est trop forte ou si l'échantillon est ensuite séparé en plusieurs tubes, si le sang est mélangé trop vigoureusement, centrifugé avant la fin de la coagulation ou stocké et transporté pendant plusieurs jours à température ambiante (2, 21, 37,41).

1.3.5. Evaluation *a priori* des différences entre sang total et plasma en utilisant le Reflovet plus

Des possibilités d'interférences liées au potassium érythrocytaire peuvent être attendues car ce système est fondé sur le dépôt d'un volume de sang total sur une plage jouant le rôle de filtre à plasma, laissant diffuser celui-ci vers la plage réactive où a lieu la lecture. Par conséquent, si de l'hémolyse a lieu sur cette plage, les ions potassium libérés peuvent diffuser vers la plage réactive et fausser le résultat.

1.3 .5.1.Chez le chien

Chez le chien, dont la concentration en potassium intra érythrocytaire est faible ($\approx 6\text{mmol/l}$) (18) , il a été montré expérimentalement qu'il n'existe pas de différence significative entre l'utilisation de sang total et plasma avec le Reflovet (39).

1.3.5.2.Chez les bovins, ovins et équins

Ce qui est redouté, lors d'utilisation de sang total, est la libération de potassium depuis les érythrocytes si l'hémolyse intervient pendant la mesure (2). En effet, certaines espèces ont une concentration en potassium intra érythrocytaire très élevée. A priori, si elle a lieu, cette hémolyse devrait avoir une influence faible chez la vache (concentration intra érythrocytaire en potassium : $\approx 22,0\text{ mmol/l}$) mais plus importante chez le cheval (concentration intra érythrocytaire en potassium : $\approx 120,0\text{ mmol/l}$) et chez le mouton (concentration intra érythrocytaire en potassium : $\approx 39,0\text{ mmol/l}$ ou $99,0\text{mmol/l}$ selon les races) (18).

DEUXIEME PARTIE : MATERIEL ET METHODES

Le but de l'étude était de comparer les résultats obtenus en mesurant le potassium à l'aide du Reflovet dans le sang total hépariné et dans le plasma préparé à partir du même prélèvement sanguin chez les bovins, les équins et les ovins.

2.1.Specimens sanguins : collecte et stockage

Cent deux spécimens sanguins de vaches ont été collectés, ainsi que quatre-vingt dix-huit de chevaux et quatre-vingt dix-huit de moutons. Les animaux ont été choisis au hasard parmi la population présente au sein des cliniques de l'ENVT, de centres équestres, d'élevages de moutons et enfin à l'abattoir. Les prélèvements ont été effectués avec l'accord des cliniciens de l'ENVT et/ou avec celui du propriétaire de l'animal. Il n'a pas été tenu compte du sexe, de l'âge, de la race et de l'état de santé de l'animal dans le choix des animaux.

Un prélèvement de 5 ml de sang veineux a été collecté pour chaque animal. Les bovins ont été ponctionnés à la veine caudale, les moutons et les chevaux à la veine jugulaire, avec des systèmes sous-vide dans des tubes contenant de l'héparinate de lithium (Venoject, Terumo, Leuven) montés sur porte tube (Venoject, Terumo, Leuven) équipé d'une aiguille (Venoject, Terumo, Leuven). Chaque tube a ensuite été identifié, puis stocké à quatre degrés en attendant l'analyse qui a été réalisée dans les quatre heures suivantes. Les prélèvements et les analyses ont été effectués par la même personne. Tous les résultats ont été consignés dans le cahier de laboratoire.

2.2.Analyses

2.2.1.Préalable aux analyse

Une bandelette Reflocheck (Scil France, Holzheim) a été insérée dans le Reflovet avant chaque série d'analyse pour en vérifier le bon fonctionnement. Dans tous les cas, les résultats étaient conformes aux indications du fabricant. Le coefficient de variation de répétabilité (CV = écart type/moyenne) de cette bandelette a été inférieur à 0,7 % sur l'ensemble des séries d'analyses effectuées (n = 24).

Avant analyse, les tubes étaient sortis du réfrigérateur puis mélangés doucement par retournements dans le but d'homogénéiser le contenu.

2.2.2. Techniques d'analyse

2.2.2.1. Mesure de la concentration en potassium dans le sang

32 µl de sang total ont été prélevés à l'aide de la pipette constructeur puis déposés sur la bandelette réactive (Reflovet K⁺, Roche, Meylan). La bandelette a ensuite été insérée dans la chambre de mesure du Reflovet. Le résultat est obtenu en quatre vingt-dix secondes, affiché sur l'écran de l'appareil et imprimé. Selon le fabricant, l'intervalle mesurable est compris entre 2 et 12 mmol/l, l'imprécision entre séries sur sérum de contrôle (5,41 mmol/l) est de 1,7% et l'exactitude par comparaison à la spectrométrie de flamme est excellente ($y = 0,98x - 0,032$, $n = 45$).

2.2.2.2. Mesure de l'hématocrite

Du sang total a été prélevé dans un tube capillaire puis placé dans une centrifugeuse (Hettich Hematokrit) pendant cinq minutes à 11000 g afin de mesurer l'hématocrite. Les hauteurs du culot globulaire et du volume total ont été mesurées à l'aide d'une règle graduée en demi-millimètres.

2.2.2.3. Mesure de la concentration en potassium dans le plasma

Les tubes contenant le sang total ont été centrifugés pendant cinq minutes à 3000 g afin de séparer le plasma (Hettich, Zentrifugen Universal 16A). Si celui-ci présentait une coloration anormale elle a été notée dans le cahier de résultats. Le plasma a été séparé puis analysé comme le sang total.

Chaque mesure n'a été effectuée qu'une seule fois pour reproduire les conditions de la pratique, même lorsqu'une correspondance paraissait *a priori* incorrecte.

2.3.Méthode de comparaison des techniques

Les résultats des deux techniques ont été comparés en utilisant les recommandations de *Clinical Chemistry* (www.aacc.org/ccj/infoauth.stm) c'est-à-dire en se fondant :

- sur la description de chacune des séries de valeurs et leur comparaison en séries appariées.
- sur l'analyse de régressions du type Passing-Bablok, puisque chacune des deux variables est soumise à une incertitude de mesure, afin de déterminer la correspondance entre les deux techniques.
- sur des diagrammes de différence, du type Bland-Altman pour déterminer si les inexactitudes étaient ou non proportionnelles, ainsi que sur des histogrammes des différences observées pour déterminer si la majorité des écarts étaient ou non acceptables sur le plan de l'interprétation médicale.
- sur une analyse de variance monofactorielle pour apprécier l'effet éventuel de l'hématocrite ou de l'hémolyse sur les différences (Sang – Plasma)-Potassium, puis sur des tests de comparaison de moyenne entre population de résultats lorsque des différences ont été mises en évidence ; en fonction de l'homogénéité des variances, les analyses ont été faites par le test de Student ou par le test de Mann et Withney.

Les calculs ont été effectués à l'aide d'un tableur Microsoft Excel, du logiciel Method Validator (<http://perso.easynet.fr/~philimar>) pour la représentation de Passing-Bablok et le jeu de macroinstructions Analyze-it (Analyze-it Software, Leeds, England).

TROISIEME PARTIE : RESULTATS¹

3.1. Chez les bovins

3.1.1. Mesure de la kaliémie dans le plasma

Les résultats obtenus lors de la mesure de la kaliémie dans le plasma chez les bovins étaient compris entre 2,00 et 6,03 mmol/l. La moyenne était de 4,26 mmol/l et la majeure partie des spécimens (95%) avaient une concentration comprise entre 3,00 mmol/l et 5,50 mmol/l (Tableau 1).

3.1.2. Mesure de la kaliémie dans le sang total

Les résultats obtenus lors de la mesure de la kaliémie dans le sang total chez les bovins étaient compris entre 2,37 et 5,90 mmol/l. La moyenne était de 4,13 mmol/l et la majeure partie des spécimens (95%) avaient une mesure concentration entre 2,80 et 5,20 mmol/l (Tableau 1).

3.1.3. Comparaison des mesures de la kaliémie en utilisant du sang total et du plasma

La comparaison entre les deux séries de mesure montre :

- Une correspondance générale assez médiocre des valeurs mesurées (tableau 1) avec :
 - une corrélation faible ($r=0,698$)
 - un écart significatif (t de Student en séries appariées, $P<0,001$)
 - une différence moyenne de $-0,13$ mmol/l (tableau 1), qui est proportionnelle (ANOVA, $P<0,001$), variant respectivement de $-0,09$ à $-0,27$ mmol/l dans les 25% de spécimens ayant les valeurs les plus élevées et les plus basses.
 - une régression de Passing-Bablok d'équation:
$$\text{Sg-Potassium} = 1,045 [0,938 ; 1,190] * \text{P-Potassium} - 0,325 [-0,917 ; 0,125].$$

[intervalles de confiance 95%].

¹ Le détail des résultats individuels figure dans l'annexe

- Quelques écarts individuels notables dont une valeur aberrante (P-Potassium = 2,00 mmol/l) qui a été éliminée en se fondant sur les critères recommandés par la Société Française de Biologie Clinique (17, 23).
- La valeur de l'hématocrite a eu un effet significatif sur la différence des mesures entre sang total et plasma (ANOVA, $P < 0,05$). La différence moyenne a diminué de $-0,08$ à $-0,36$ mmol/l sans que les variances diffèrent significativement (Figure 4).
- La majorité (62,4%) des écarts entre sang total et plasma ne dépassait pas 0,20 mmol/l et 82,2% des écarts étaient inférieurs à 0,40 mmol/l (Figure 3).
- L'intervalle de référence pour la vache d'après le fabricant est [3,9-5,8] mmol/l, si l'on considère que le plasma est la référence, alors seulement 12 valeurs mesurées dans le sang total auraient été mal classées comme « normales » ou « anormales » (Tableau 4).
- La proportion d'échantillons hémolysés était de 16%, il y a eu 5 cas d'hémolyse importante. Les effets de l'hémolyse sur la différence des résultats obtenus dans le sang et le plasma ont été statistiquement significatifs (ANOVA, $P < 0,01$) ; les écarts étaient statistiquement significatifs entre les spécimens non hémolysés et ceux faiblement hémolysés (test de Mann et Withney, $P < 0,05$), les différences moyennes (S – P)-Potassium étaient respectivement de $-0,12$ mmol/l et de $-0,38$ mmol/l.

Tableau 1 : Statistiques descriptives de la mesure de la kaliémie dans le sang total hépariné et le plasma correspondant et de la mesure sang – plasma (Sg-P) dans 102 spécimens de bovins.

	Plasma	Sang	Sg-P
Moyenne	4,26	4,13	-0,13
Médiane	4,28	4,15	-0,14
Écart-type	0,54	0,54	0,42
Minimum	2,00	2,37	-1,19
Maximum	6,03	5,9	2,13
Nombre d'échantillons	102	102	102

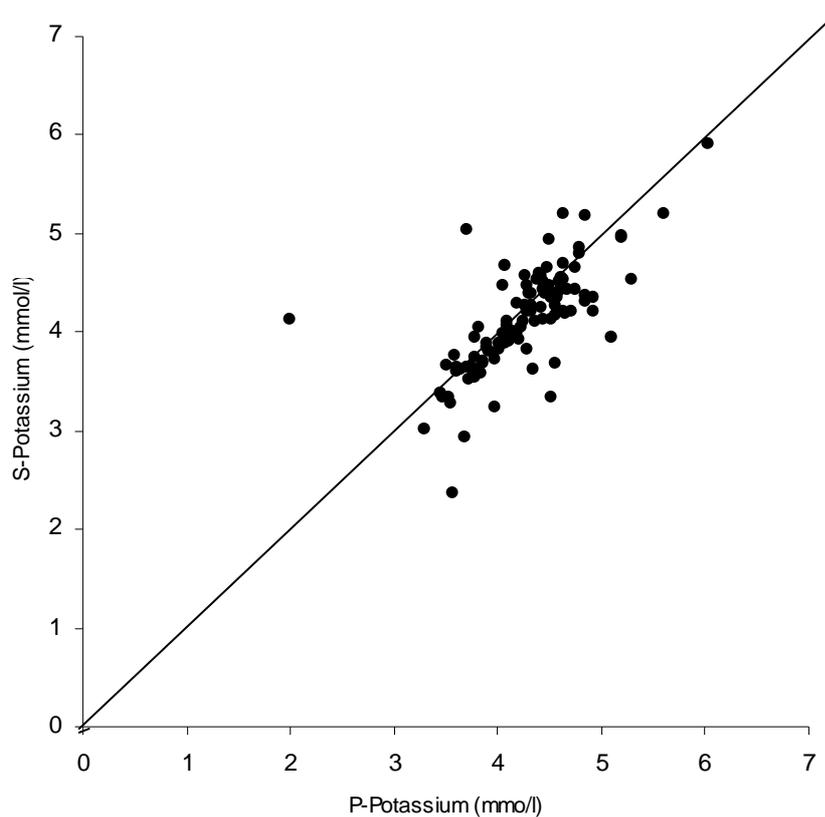


Figure 1 : Nuage de points représentant l'agrément de la mesure de la kaliémie dans le sang total hépariné et le plasma correspondant pour 102 spécimens de bovins

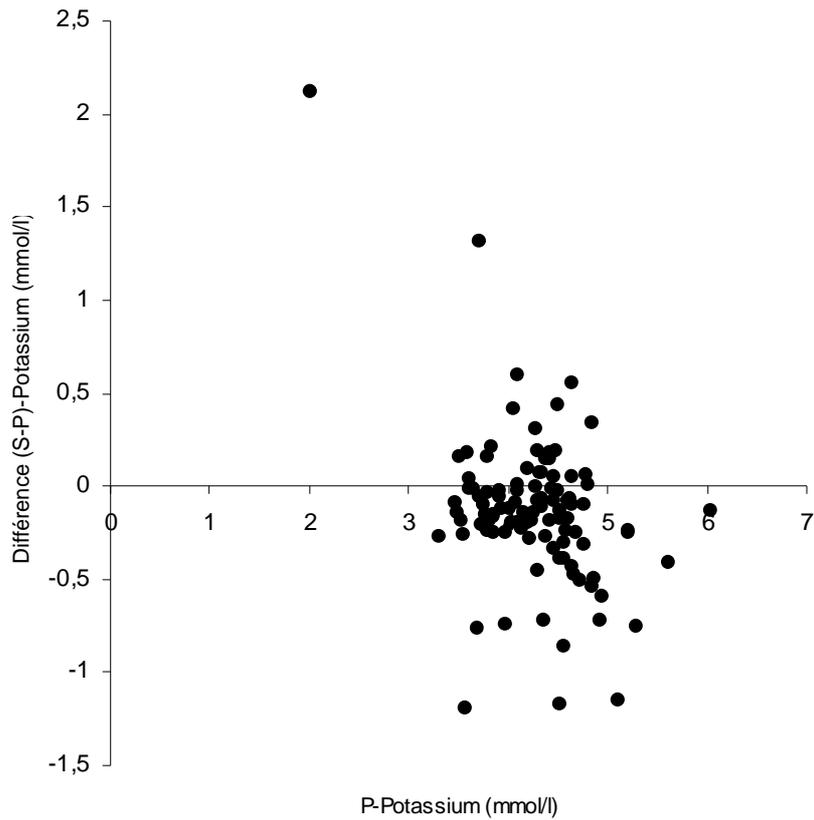


Figure 2 : Diagramme des différences (Sg-P) en fonction de la valeur dans le plasma dans 102 spécimens de bovins.

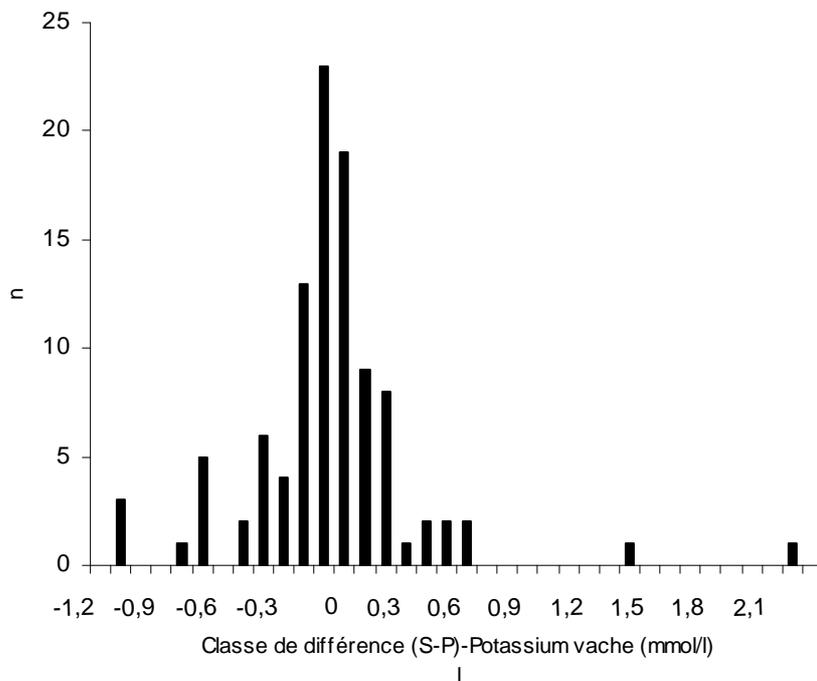


Figure 3 : Distribution des différences (Sg-P) dans 102 spécimens de bovins.

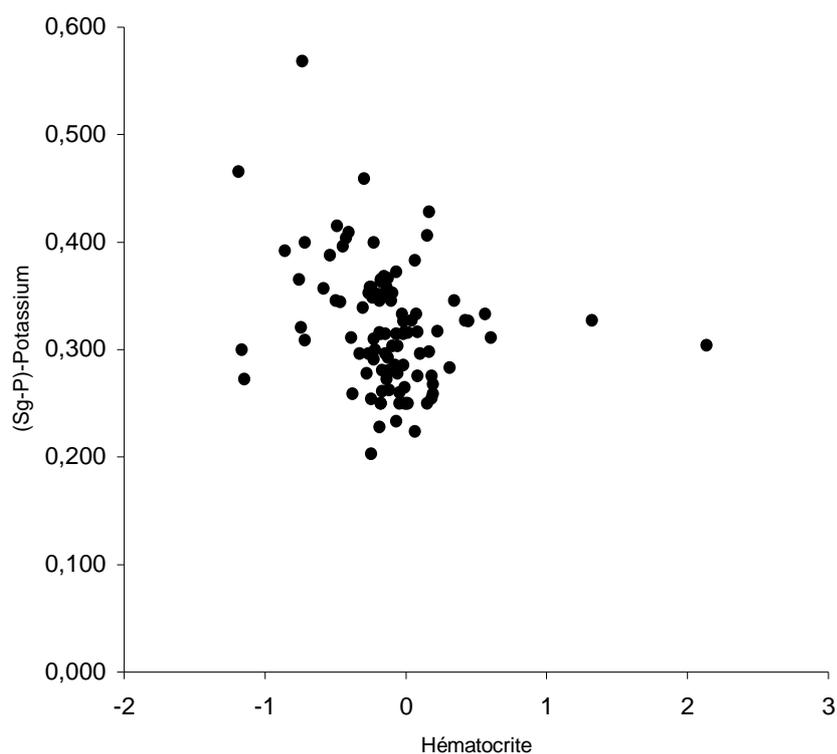


Figure 4 : diagramme des différences (Sg-P)-Potassium (mmol/l) en fonction de la valeur de l'hématocrite (L/L) pour 102 spécimens de bovins.

Tableau 2 : Nombre de cas individuels où la différence (Sang total – Plasma) pour la mesure de la kaliémie a été comprise dans les intervalles (différence moyenne \pm 0,2 mmol/L) et (différence moyenne \pm 0,4 mmol/L), chez le cheval, la vache et le mouton (n = nombre de cas totaux).

	n	Intervalle différence moyenne	
		\pm 0,2 mmol/L	\pm 0,4 mmol/L
Cheval	98	75	92
Vache	101	63	83
Mouton	97	22	44

3.2. Chez les ovins

3.2.1. Mesure de la kaliémie dans le plasma

Les résultats obtenus lors de la mesure de la kaliémie dans le plasma chez les ovins étaient compris entre 3,71 et 6,16 mmol/l. La moyenne était de 5,16 mmol/l et la majeure partie des spécimens (95%) avaient une concentration comprise entre 3,70 mmol/l et 6,10 mmol/l (Tableau 2).

3.2.2. Mesure de la kaliémie dans le sang total

Les résultats obtenus lors de la mesure de la kaliémie dans le sang total chez les ovins étaient compris entre 2,82 et 12,00 mmol/l. La moyenne était de 5,65 mmol/l et la majeure partie des spécimens (95%) avaient une concentration comprise entre 4,00 et 8,00 mmol/l (Tableau 2).

3.2.3. Comparaison des mesures de la kaliémie en utilisant du sang total et du plasma

La comparaison entre les deux séries de mesure montre :

- Une mauvaise correspondance générale des valeurs mesurées (figure 4) avec :
 - une corrélation faible ($r=0,633$)
 - un écart significatif (t de Student en séries appariées, $P<0,001$)
 - une différence moyenne de 0,49 mmol/l (tableau 2), qui est proportionnelle (ANOVA, $P<0,001$) variant de 0,34 mmol/L pour les 25% des valeurs les plus basses à 0,53 mmol/l des valeurs les plus élevées.
 - une régression Passing-Bablok d'équation :
 $Sg\text{-Potassium} = 1,512 [1,259 ; 1,810] * P\text{-Potassium} - 2,306 [-3,774 ; -1,031]$.
[intervalles de confiance 95%]
- Quelques écarts individuels notables dont une valeur aberrante (P-Potassium = 12,0 mmol/l) qui a été éliminée d'après les critères de la SFBC (17).
- La valeur de l'hématocrite a eu un effet significatif sur les différences de mesure entre sang total et plasma (ANOVA, $P<0,05$). La variance des résultats a augmenté avec

l'hématocrite, tout comme la différence observée entre sang et plasma qui a varié de 0,07 mmol/l à 0,54 mmol/l en moyenne dans les 25% de spécimens ayant les hématocrites les plus bas et les plus élevés(Figure 8).

- La majorité (55,1%) des écarts entre sang total et plasma dépassait 0,40 mmol/l (Figure 7).
- L'intervalle de référence pour le mouton d'après Kaneko est [3,9-5,4] mmol/l, 25 des valeurs auraient été mal classées comme « normales » ou « anormales », majoritairement des concentrations plasmatiques comprises dans l'intervalle de référence donnant des résultats dans le sang total pouvant atteindre dans le sang total 7,5 à 8,0 mmol/l (Tableau 4).
- La proportion d'échantillons hémolysés était de 13%, il y a eu un cas d'hémolyse importante. Les effets de l'hémolyse sur la différence des résultats obtenus dans le sang et le plasma ont été statistiquement significatifs (ANOVA, $P < 0,01$) ; cependant, les écarts entre les groupes ne l'étaient pas (test de Student ou de Mann et Withney, $P > 0,05$).

Tableau 3 : Statistiques descriptives de la mesure de la kaliémie dans le sang total hépariné et le plasma correspondant et de la mesure sang – plasma (Sg-P) dans 98 spécimens d’ovins.

	Plasma	Sang	Sg-P
Moyenne	5,16	5,65	0,49
Médiane	5,11	5,51	0,26
Écart-type	0,57	1,13	0,89
Minimum	3,71	2,82	-0,89
Maximum	6,16	12,00	5,84
Nombre d'échantillons	98	98	98

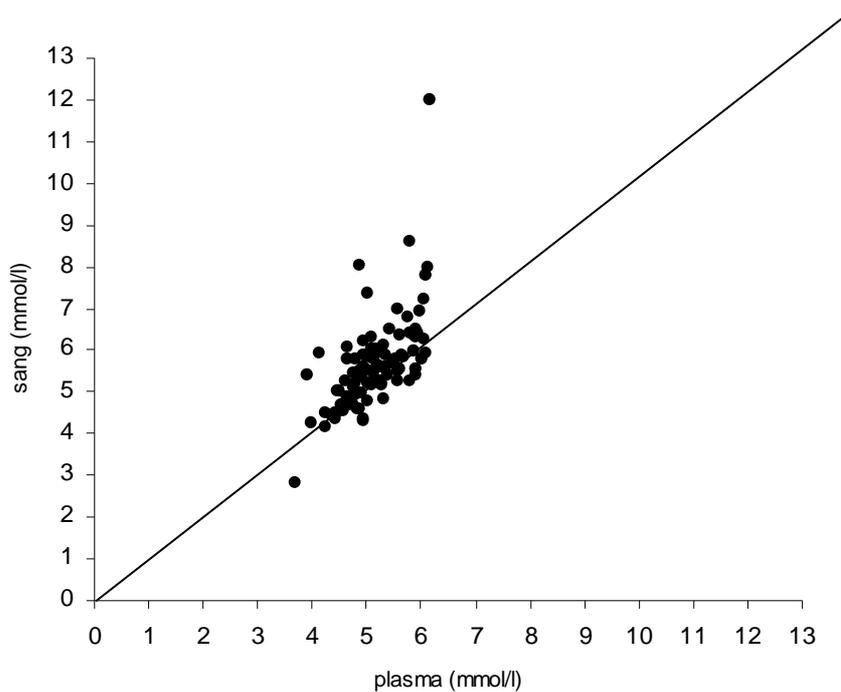


Figure 5 : Nuage de points représentant l’agrément de la mesure de la kaliémie dans le sang total hépariné et le plasma correspondant pour 98 spécimens d’ovins.

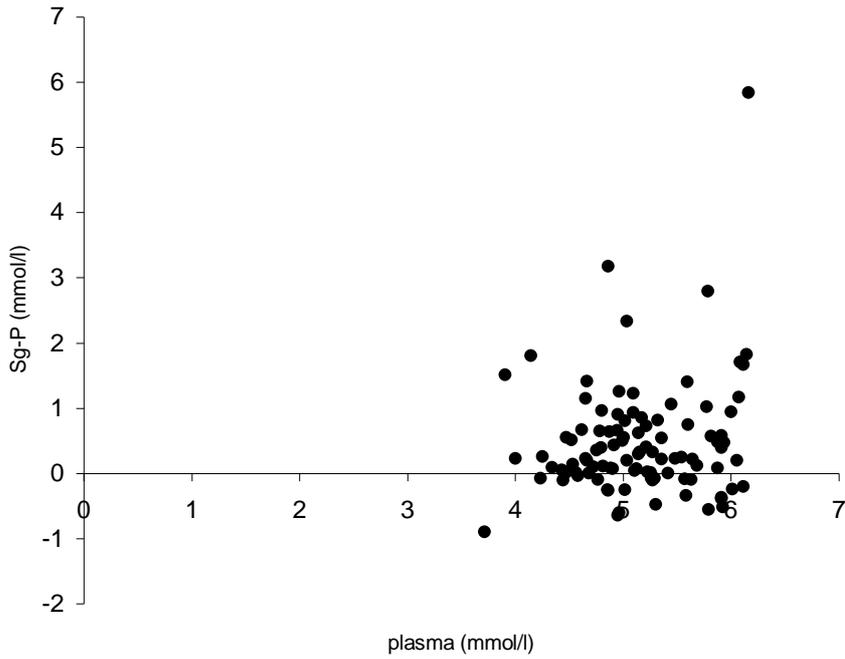


Figure 6 : Diagramme des différences (Sg-P) en fonction de la valeur dans le plasma dans 98 spécimens d'ovins.

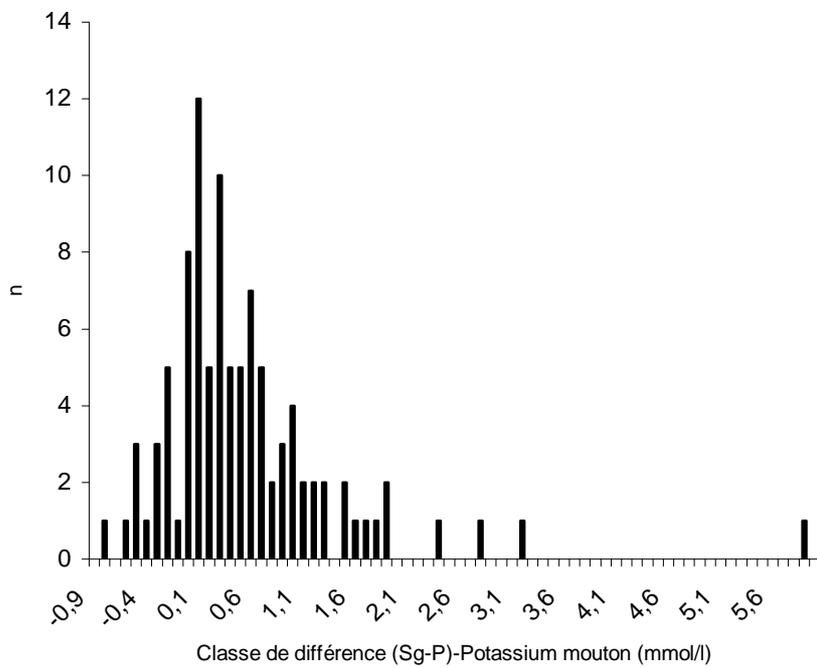


Figure 7 : Distribution des différences (Sg-P) dans 98 spécimens d'ovins.

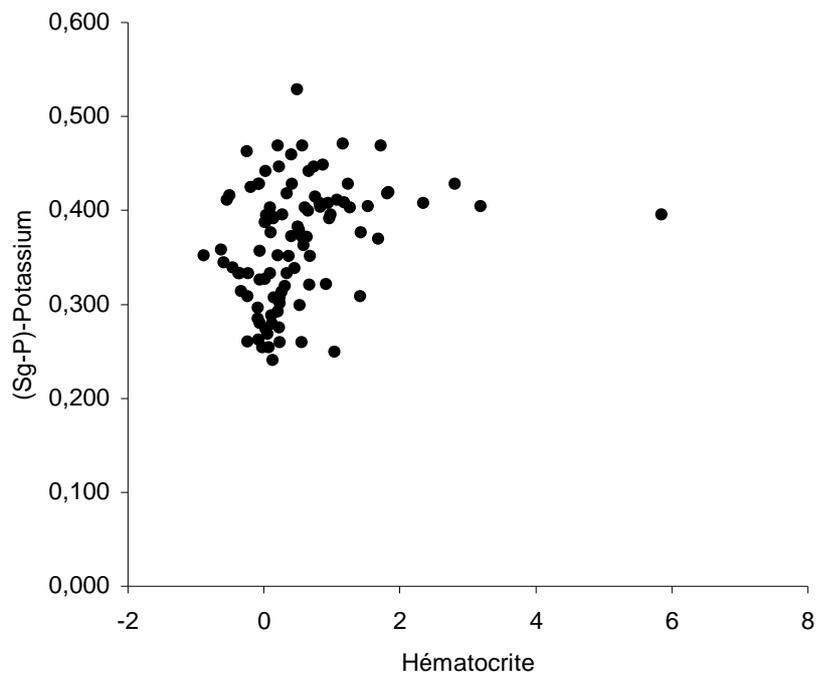


Figure 8 : diagramme des différences (Sg-P)-Potassium (mmol/l) en fonction de la valeur de l'hématocrite (L/L) pour 98 spécimens d'ovins.

3.3. Chez les équins

3.3.1. Mesure de la kaliémie dans le plasma

Les résultats obtenus lors de la mesure de la kaliémie dans le plasma chez les équins étaient compris entre 2,42 et 5,03 mmol/l. La moyenne était de 3,63 mmol/l et la majeure partie des spécimens (95%) avaient une concentration comprise entre 2,50 mmol/l et 4,80 mmol/l (Tableau 3).

3.3.2. Mesure de la kaliémie dans le sang total

Les résultats obtenus lors de la mesure de la kaliémie dans le sang total chez les équins étaient compris entre 2,44 et 4,79 mmol/l. La moyenne était de 3,53 mmol/l et la majeure partie des spécimens (95%) avaient une concentration comprise entre 2,50 et 4,50 mmol/l (Tableau 3).

3.3.3. Comparaison des mesures de la kaliémie en utilisant du sang total et du plasma

La comparaison entre les deux séries de mesure montre :

- un bonne correspondance générale des valeurs mesurées (figure 7) avec :
 - une corrélation forte ($r=0,888$)
 - un écart significatif (t de Student en séries appariées, $P<0,001$)
 - une différence moyenne de $-0,10$ mmol/l (tableau 3), qui est proportionnelle (ANOVA, $P<0,001$), variant respectivement de $0,07$ à $-0,22$ mmol/l dans les 25% de spécimens ayant les valeurs les plus élevées et les plus basses.
 - une régression Passing-Bablok d'équation :
$$\text{Sg-Potassium} = 0,875 [0,807 ; 0,947] * \text{P-Potassium} + 0,307 [0,078 ; 0,582].$$

[intervalles de confiance 95%]
- La valeur de l'hématocrite a eu un effet significatif sur la différence des mesures entre sang total et plasma (ANOVA, $P<0,05$). La différence moyenne a diminué de $0,07$ à $-0,22$ mmol/l sans que les variances diffèrent significativement (Figure 12).
- La majorité (76,5%) des écarts entre sang total et plasma ne dépassait pas $0,20$ mmol/l (Figure 11).

- L'intervalle de référence pour le cheval d'après le constructeur est [2,8-4,5] mmol/l, seules six valeurs mesurées dans le sang total auraient été mal classées comme « normales » ou « anormales » en considérant que la valeur mesurée dans le plasma était la référence.
- La proportion d'échantillons hémolysés était de 4%, il y a eu un cas d'hémolyse importante. Les effets de l'hémolyse sur la différence des résultats obtenus dans le sang et le plasma ont été statistiquement significatifs (ANOVA, $P < 0,01$) ; cependant, les écarts entre les groupes ne l'étaient pas (test de Student ou de Mann et Withney, $P > 0,05$).

Tableau 4 : Statistiques descriptives de la mesure de la kaliémie dans le sang total hépariné et le plasma correspondant et de la mesure sang – plasma (Sg-P) dans 98 spécimens d'équins.

	Plasma	Sang	Sg-P
Moyenne	3,63	3,53	-0,10
Médiane	3,65	3,57	-0,11
Écart-type	0,53	0,45	0,24
Minimum	2,42	2,44	-0,71
Maximum	5,03	4,79	1,12
Nombre d'échantillons	98	98	98

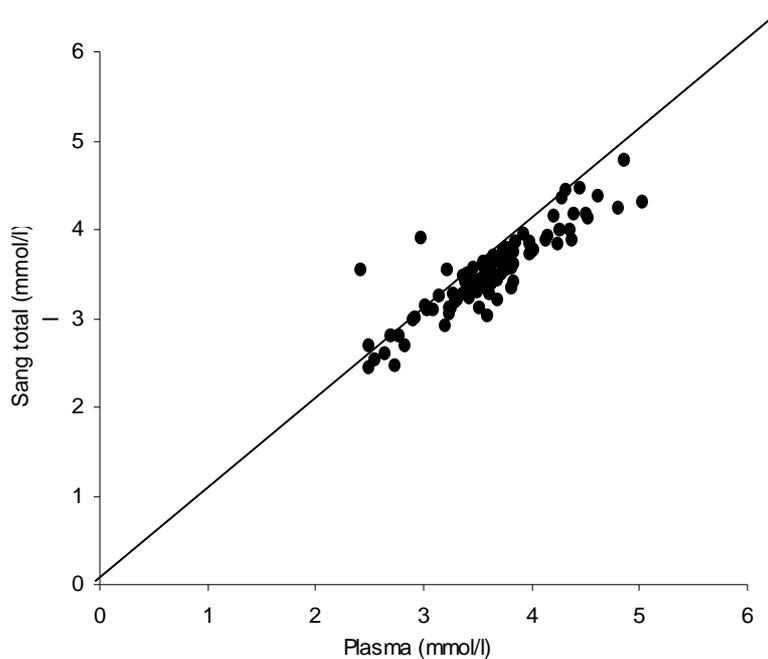


Figure 9 : Nuage de points représentant l'agrément de la mesure de la kaliémie dans le sang total hépariné et le plasma correspondant pour 98 spécimens d'équins.

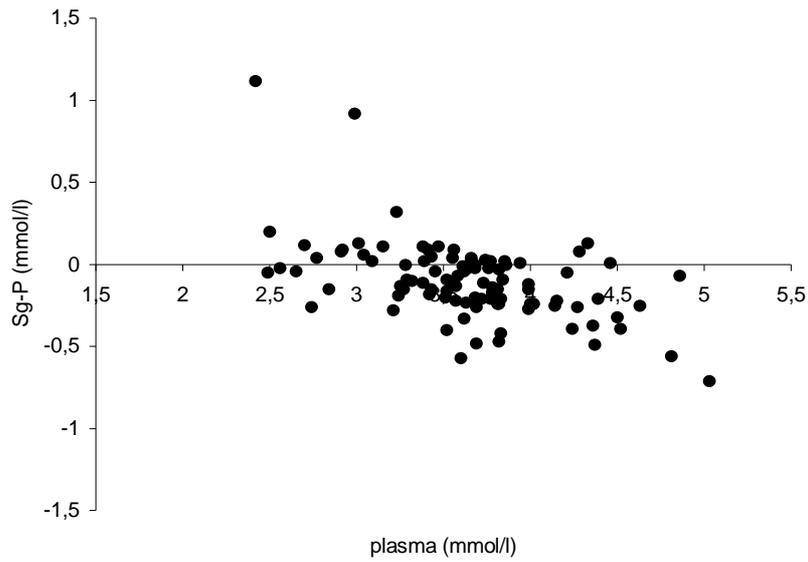


Figure 10 : Diagramme des différences (Sg-P) en fonction de la valeur dans le plasma dans 98 spécimens d'équins.

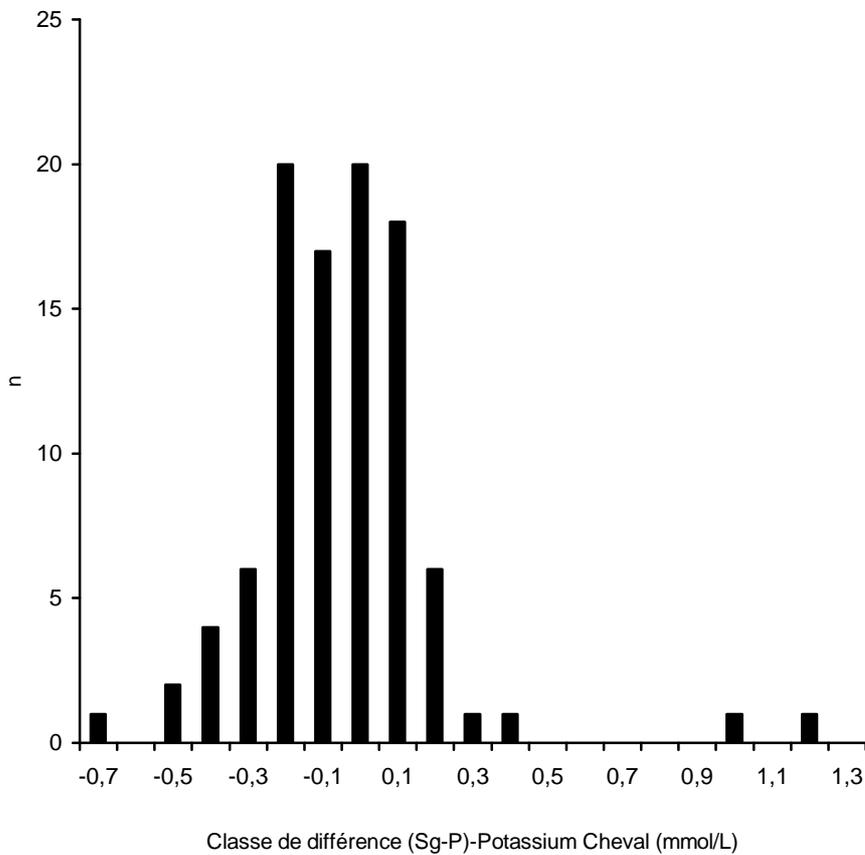


Figure 11 : Distribution des différences (Sg-P) dans 98 spécimens d'équins.

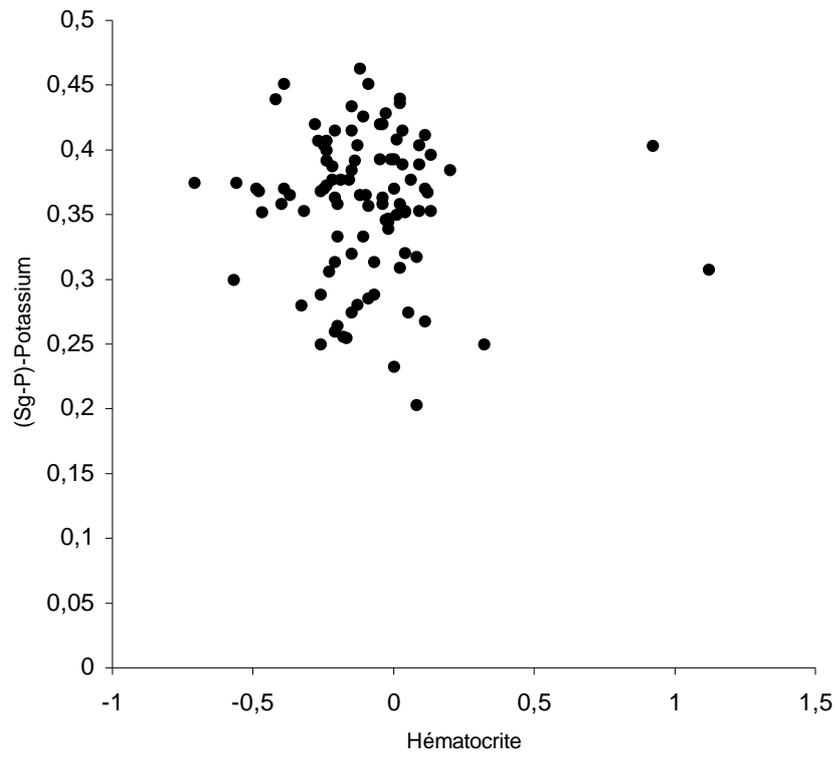


Figure 12 : diagramme des différences (Sg-P)-Potassium (mmol/l) en fonction de la valeur de l'hématocrite (L/L) pour 98 spécimens d'équins.

QUATRIEME PARTIE : DISCUSSION

4.1. Qualité *a priori* de la technique analytique

Comme nous l'avons vu dans la première partie, la technique du dosage du potassium dans le plasma par le Reflotron a été validée aussi bien en médecine humaine que vétérinaire chez le chien. De plus, chaque série de mesure a toujours été précédée par la lecture d'une bandelette Reflocheck (référence) pour vérifier le bon fonctionnement de l'appareil. Cette technique est relativement facile, rapide et peu onéreuse dans la mesure où l'on possède l'analyseur.

L'exactitude et la précision de cette technique sont tout à fait satisfaisantes et peuvent être aisément vérifiées. Le Reflotron est capable de mesurer la kaliémie dans l'intervalle suivant : [2,0-12,0] mmol/l, ce qui correspond bien à l'intervalle de mesure de la kaliémie chez les bovins, ovins et équins. Les kaliémies mesurées couvraient l'intervalle couramment observé en pratique.

Par conséquent, les résultats donnés par cette technique dans du plasma peuvent valablement être utilisés à des fins cliniques, aussi bien chez des sujets sains (intervalle de kaliémie \approx [3,5-5,5] mmol/l) que chez les sujets malades. Il est en effet rare d'observer des valeurs inférieures à 2,0 mmol/l et supérieures à 8,0 mmol/l.

4.2. Nature de l'échantillon analysé

L'échantillonnage de sang et par conséquent de plasma n'a pas été sélectionné sur des critères médicaux mais sur la disponibilité des animaux utilisables. Le nombre relativement élevé de spécimens a permis de disposer d'une gamme étendue de kaliémies mesurées dans le sang et le plasma. En effet, les valeurs extrêmes mesurées ont été respectivement dans le sang et le plasma : chez les bovins de 2,37 à 5,90 mmol/l et de 2,00 à 6,03 mmol/l, chez les ovins de 2,82 à 12,00 mmol/l et de 3,71 à 6,16 et chez les équins de 2,44 à 4,79 mmol/l et de 2,42 à 5,03 mmol/l.

Le fait que le sang total ait été stocké pendant des durées variables n'a pu que faiblement influencer car ce stockage n'excédait pas les quatre heures. De plus, les prélèvements étaient conservés à 4°C. En tout cas, cela n'a pas pu avoir d'influence sur la comparaison puisque les analyses dans le sang et le plasma ont toujours été effectuées dans un intervalle assez court.

Le fait que le sang sédimente au cours du stockage et nécessite donc une homogénéisation préalable aux analyses a pu entraîner une hémolyse libérant du potassium érythrocytaire dans le plasma. Cependant, le mélange était réalisé par retournements successifs et délicats pour limiter ce phénomène.

4.3.Influence de l'hémolyse

La proportion des spécimens présentant de l'hémolyse était faible, limitant ainsi les possibilités d'interprétation quant aux effets de ce facteur de variation. A priori, la concentration en potassium érythrocytaire étant supérieure chez le cheval que chez le mouton ou la vache, il aurait été possible que des traces d'hémolyse sur la plage de dépôt du spécimen de sang total entraîne des résultats anormalement élevés dans cette espèce. Comme cela n'a pas été observé, il est donc vraisemblable que les globules de cheval résistent à l'hémolyse sur la bandelette, tout comme ceux de la vache. En revanche les fortes différences mesurées entre le sang total et le plasma chez le mouton montrent que les érythrocytes de cette espèce libèrent de fortes quantités de potassium au contact de la bandelette réactive. Ces observations confirment que les érythrocytes de mouton sont moins déformables et plus fragiles que ceux des vaches et chevaux, comme cela a été démontré par leur sensibilité aux sels biliaries (31, 33).

4.4.Influence de l'hématocrite

Chez les chevaux et les vaches, comme chez le chien (39), les valeurs mesurées dans le sang étaient inférieures à celle du plasma, cette différence augmentant avec l'hématocrite. Il est vraisemblable que cela reflète le fait que la mesure par la bandelette dépend de la quantité totale d'ions potassium en contact avec la plage réactive. Par conséquent, lorsque l'hématocrite augmente, le volume de plasma diminue et avec lui la quantité d'ions potassium réagissant avec la bandelette. Cependant, pour les hématocrites moyens cet effet est faible.

4.5.Comparaison des techniques de mesure de la kaliémie à l'aide de sang total et de plasma

4.5.1.Chez les bovins

Les résultats ont montré une assez mauvaise correspondance entre les valeurs obtenues dans le sang et celles dans le plasma ($r = 0,698$). Mais la différence moyenne était faible (- 0,13 mmol/l) quoique statistiquement significative. Les valeurs obtenues en moyenne dans le plasma étaient supérieures à celles du sang total. La comparaison des résultats obtenus dans le sang total et le plasma montre que l'on peut directement mesurer la kaliémie à l'aide de sang total avec le système Reflovet en ne risquant qu'un faible pourcentage d'erreurs susceptibles d'entraîner une mauvaise classification des résultats par rapport aux intervalles de référence (12 sur 102 spécimens). En outre, la différence moyenne entre les valeurs obtenus dans les deux spécimens était de 0,13 mmol/l ce qui est dénué de signification clinique.

4.5.2.Chez les ovins

Les résultats ont montré un mauvais agrément entre les valeurs obtenues dans le sang et dans le plasma ($r = 0,633$). De plus, la différence moyenne était relativement forte (0,49 mmol/l) et statistiquement significative. Les valeurs obtenues en moyenne dans le plasma étaient inférieures à celles du sang total entraînant dans environ 25% des cas une mauvaise classification des résultats, d'autant plus sérieuse qu'elle peut donner des résultats considérés comme « valeurs paniques » en biologie humaine chez des sujets ayant des valeurs normales lorsque la mesure était effectuée dans le plasma (1, 15).

4.5.3.Chez les équins

Les résultats ont montré un bon agrément entre les valeurs obtenues dans le sang et celles dans le plasma ($r = 0,888$). De plus, la différence moyenne était relativement faible (0,10 mmol/l) mais statistiquement significative. Les valeurs obtenues en moyenne dans le plasma étaient inférieures à celles du sang total. La comparaison des résultats obtenus dans le sang total et le plasma montre que l'on peut directement mesurer la kaliémie à l'aide de sang total avec le système Reflovet en ne risquant qu'un faible pourcentage d'erreurs susceptibles d'entraîner une mauvaise classification des résultats par rapport aux intervalles de référence

(6 cas sur 98 spécimens). En outre, la différence moyenne entre les valeurs obtenus dans les deux spécimens était de 0,10 mmol/l ce qui est dénué de signification clinique.

CONCLUSION

Il est, en pratique, plus aisé et plus rapide pour le vétérinaire de pouvoir utiliser du sang total pour mesurer la kaliémie dans le sang à l'aide du Reflovet. En effet, cela permet de s'affranchir d'une manipulation : la centrifugation.

Cette étude montre que cela n'est pas possible chez les ovins. En effet, si on utilise du sang total à la place du plasma chez cette espèce le risque d'erreur est trop important.

Chez les équins et les bovins, les résultats de l'étude montrent qu'il est tout à fait possible d'obtenir une valeur très proche de la kaliémie réelle en utilisant du sang total à la place de plasma. On peut donc, chez le cheval et la vache, utiliser du sang total pour doser le potassium à l'aide du Reflovet dans une situation d'urgence ou l'on ne dispose pas de centrifugeuse.

LISTE DES REFERENCES

- 1) BALLAND M.
Potassium et sodium.
In : SIEST, G., HENNY, J., SCHIELE, F.
Références en biologie clinique Option Bio
Elsevier, Paris, 1990, 485-499.
- 2) BRACKETT , J., DURLEY, B., JANCZAK , R *et al.*
Centrifugal ion-selective electrode system for potassium in whole blood
Clinical Chemistry, 1990, **36**, 2126-2130.
- 3) BRADFORD P. SMITH
Clinical chemistry tests
Large animal internal medicine, Second edition.
Saint-Louis: Mosby-Year book, 1996, 441-469.
- 4) BRAUN, J.P., CARSTENSEN, C.A.
Plasma potassium measurement with a new reagent carrier (Reflotron): comparison with ion-selective electrode results
Research in Veterinary Science, 1993, **54**, 127-129.
- 5) CARLSON, GARY, P.
Fluid, Electrolyte, and Acid-Base Balance
In : KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L.
Clinical Biochemistry of Domestic Animals, Fifth edition.
San Diego : Academic Press, 1997, 495-516.
- 6) COLDMAN, M. F., GOOD, W.
The distribution of sodium, potassium and glucose in the blood of some mammals
Comparative Biochemistry and Physiology, 1967, **242**, 805-826.
- 7) CONTRERAS, A., MARTINEZ, R., DEVES, R. *et al*
An usual pattern of Na⁺ and K⁺ movements across the horse erythrocyte membrane
Biochimica et Biophysica Acta, 1986, **856**.
- 8) EL-SEBAIE, A., HOFMANN, W.
The effect of hemolysis on the measurement of various components in the cattle
Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, 1981, **88**, 364-368.
- 9) EPSTEIN, V.
Changes in haematological values and plasma electrolytes following storage of whole blood samples collected from horses
Australian Veterinary Journal, 1984, **61**, 325-327.
- 10) EVANS, J.V., KING, J.W.B., COHEN, B.L. *et al*
Genetics of haemoglobin and blood potassium differences in sheep
Nature, 1956, **178**, 849.

- 11) HARRIS, P., SNOW, D. H.
Alterations in plasma potassium concentrations during and following short-term strenuous exercise in the horse
Journal of Physiology, 1986, **376**, 46P.
- 12) HARRIS, P., SNOW, D. H.
The effects of high intensity exercise on the plasma concentration of lactate, potassium and other electrolytes
Equine Veterinary Journal, 1988, **20**, 109-113.
- 13) HARVEY, J.J.
The Erythrocyte
In : KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L.
Clinical Biochemistry of Domestic Animals, Fifth edition.
San Diego : Academic Press, 1997, 495-516.
- 14) HINTZ, H.F., SCHRYVER, H.F.
Potassium metabolism in ponies
Animal Science, 1976, **3**, 637-643.
- 15) JACOBS D.S., KASTEN B.L., DEMOTT W.R. et WOLFSON W.L.
Laboratory test handbook, Second edition.
Williams & Wilkins, Baltimore, 1990, 302-303.
- 16) JACOBS, R. M., LUDSEN, J. H., GRIFT E.
Effects of bilirubinemia, hemolysis, and lipemia on clinical chemistry analytes in bovine, canine, equine, and feline sera
Canadian Veterinary Journal, 1992, **33**, 605-608.
- 17) JONES R.G. et PAYNE R.B.
Clinical investigation and statistics in laboratory medicine.
ACB Venture Publications, London, 1997:27-65.
- 18) KANEKO, J.J., HARVEY, J.W., BRUSS, M.L.
Clinical Biochemistry of Domestic Animals, fifth edition.
San Diego : Academic Press, 1997, 932p.
- 19) KLEIN, J.P., FORSTER, H.V., STEWART, R.D. *et al*
Hemoglobin affinity for oxygen during short-term exhaustive exercise
Journal of Applied Physiology, 1980, **48**, 236-242.
- 20) KUHLMANN, W. D., HODGSON, D. S., FEDDE, M. R.
Respiratory, cardiovascular, and metabolic adjustments to exercise in the Hereford calf
The American Physiological Society, 1985, **85**, 1273-1280.
- 21) LADENSON, J. H.
Direct potentiometric measurement of sodium and potassium in whole blood
Clinical Chemistry, 1977, **23**, 1912-1916.

- 22) LAURELL, H., PERNOW, B.
Effect of exercise on plasma potassium in man
Acta Physiologica Scandinavia, 1966, **66**, 241-242.
- 23) MARQUIS P.
Comparaisons de méthodes analytiques.
Annales de Biologie Clinique, 1999, **57**, 737-738.
- 24) MARTIN, W. B., AITKEN, I. D.
Deficiency of macro-elements in mineral metabolism
Diseases of sheep, Second edition.
London : Blackwell Scientific Publications, 1991, 225-237.
- 25) N. : Potassium. Notice technique Réflotron Plus, Modification Réflonet Plus.
Roche, Meylan, 2002, K⁺¹-K⁺⁶.
- 26) PASCHEN, K., HAGEMANN, P., LANG, H. R. M. *et al*
Determination of potassium by dry reagent carrier technology: a multicentre evaluation
European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry, 1993, **31**, 545-552.
- 27) PATRICK, J.
Assessment of body potassium stores
Kidney International, 1977, **11**, 476-490
- 28) REHAK, N. N., CHIANG, B. T.
Storage of whole blood : effect of temperature on the measured concentration of analytes in serum
Clinical Chemistry, 1988, **34**, 2111-2114.
- 29) ROMER, M., HAECKEL, R., HENCO, A. *et al*
A multicentre evaluation of the Ektachem DT60-, Reflotron- and Seralyzer III system
European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry, 1992, **30**, 547-583.
- 30) RONALD, H., NG., SPARKS, K., M., STATLAND, B., E.
Colorimetric determination of potassium in plasma and serum by reflectance photometry with a dry-chemistry reagent
Clinical Chemistry, 1992, **38**, 1371-1372.
- 31) SALVIOLI G., GAETTI E., PANINI R., LUGLI R. et PRADELLI J.M.
Different resistance of mammalian red blood cells to hemolysis by bile cells
Lipids, 1993, **28**, 999-1003.
- 32) SANDBERG, S., CHRISTENSEN, N. G., THUE, G. *et al*
Performance of dry-chemistry instruments in primary health care
Scandinavian Journal of Clinical Laboratory Investigation, 1989, **49**, 483-488.
- 33) SMITH J.E., MOHANDAS M. et SHOHET S.B.
Variability in erythrocyte deformability among various mammals.
American Journal of Physiology, 1979, **236**, H725-H730

- 34) SUZUKI, A., SUGAWARA, K., ITO, I.
Frequency of appearance of low and high potassium types and mineral concentrations in whole blood of sheep
Tohoku Journal of Agricultural Research, 1991, **41**, 57-60.
- 35) TASKER, J. B.
Fluid and electrolyte studies in the horse. The effects of fasting and thirsting
Cornell Veterinarian, 1967, **58**, 658-667
- 36) TAYLOR F. G. R., HILLYER, M. H.
Fluid electrolyte and acid-base balance
Diagnostic techniques in equine medicine, First edition.
London : WB Saunders Company, 1997, 191-200.
- 37) THOMAS, L.
Haemolysis as influence and interference factor
E Journal of the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 2002, vol 13, no 4,1-6.
- 38) THUE, G., SANDBERG, S.
Performance of the Reflotron and the Seralyzer in primary health care
Scandinavian Journal of Clinical Laboratory Investigation, 1993, **53**, 253-261.
- 39) TRUMEL, C., VERWAERDE, P., RASCOL, A. *et al*
Comparison of whole blood and plasma potassium concentrations in dogs using the Reflovet system
Veterinary Clinical Pathology, 2003, **32**, 140-142.
- 40) TUCKER, E. M., ELLORY, J. C.
The cation composition of the red cells of sheep with an inherited deficiency of reduced glutathione
Research in Veterinary Science, 1971, **12**, 600-602.
- 41) WEISBERG, L., COX, M.
In: NOE, A.D., ROCK, R.C.
Laboratory Medicine, First edition.
Baltimore: Williams and Wilkins, 1994, 732-749.
- 42) WONG, S. T., SPOO, J., KERST, K. C. *et al*
Colorimetric determination of potassium in whole blood, serum and plasma
Clinical Chemistry, 1985, **31**, 1464-1467.

ANNEXES

Annexe 1 : Résultats des mesures de la kaliémie dans le sang total hépariné et le plasma correspondant ainsi que la coloration du plasma et l'hématocrite des 102 spécimens de bovins.

vache n°	sang total	plasma	coloration	hématocrite
1	3,89	4,08	0	0,316
2	3,63	3,64	0	0,317
3	4,1	4,09	0	0,250
4	3,37	3,45	0	0,281
5	4,43	4,68	0	0,203
6	5,9	6,03	0	0,293
7	4,53	4,38	0	0,250
8	4,39	4,46	0	0,373
9	4,21	4,28	0	0,233
10	4,39	4,31	0	0,276
11	3,64	3,74	0	0,304
12	3,8	3,92	0	0,281
13	4,29	4,19	0	0,296
14	3,59	3,84	0	0,255
15	3,62	3,77	0	0,296
16	4,4	4,32	0	0,317
17	4,85	4,78	0	0,333
18	5,18	4,84	0	0,345
19	4,66	4,75	0	0,281
20	3,99	4,18	0	0,228
21	4,47	4,28	0	0,268
22	4,47	4,05	0	0,328
23	5,19	4,63	0	0,333
24	4,51	4,45	0	0,224
25	3,76	3,58	0	0,276
26	2,37	3,56	0	0,466
27	4,21	4,32	0	0,345
28	3,02	3,29	0	0,296
29	3,65	3,61	0	0,327
30	3,34	3,48	0	0,273
31	3,75	3,78	0	0,333
32	4,11	4,25	0	0,351
33	3,72	3,97	0	0,358
34	4,27	4,33	0	0,304
35	3,94	3,78	0	0,298
36	4,07	4,09	1	0,286
37	4,52	4,59	0	0,315
38	4,8	4,79	3	0,316
39	4,68	4,08	3	0,311
40	3,63	4,35	1	0,309
41	4,12	4,45	1	0,296
42	3,6	3,61	0	0,265
43	5,03	3,71	0	0,328
44	3,65	3,7	0	0,260

45	3,55	3,78	3	0,291
46	4,36	4,85	0	0,415
47	3,34	4,51	0	0,300
48	3,9	4,12	0	0,300
49	4,93	4,49	0	0,327
50	3,89	4,01	1	0,262
51	4,42	4,59	0	0,262
52	4,04	3,82	0	0,317
53	4,43	4,44	0	0,250
54	4,13	2	1	0,304
55	4,57	4,26	0	0,283
56	4,56	4,62	0	0,278
57	4,34	4,57	0	0,310
58	4,34	4,51	0	0,281
59	3,95	5,1	0	0,273
60	4	4,14	2	0,358
61	4,48	4,5	0	0,315
62	4,54	5,29	1	0,321
63	4,21	4,71	0	0,345
64	3,53	3,73	0	0,352
65	4,24	4,42	0	0,364
66	3,34	3,52	0	0,315
67	4,05	4,23	0	0,250
68	3,98	4,06	0	0,286
69	3,66	3,5	0	0,429
70	4,39	4,52	0	0,367
71	5,2	5,61	1	0,409
72	4,26	4,56	1	0,459
73	4,2	4,92	1	0,400
74	4,3	4,84	0	0,388
75	4,97	5,2	1	0,400
76	4,53	4,63	1	0,353
77	4,95	5,19	0	0,348
78	4,19	4,66	0	0,345
79	4,2	4,63	0	0,404
80	4,57	4,42	0	0,406
81	4,34	4,93	2	0,357
82	3,69	3,85	0	0,368
83	3,63	3,81	0	0,365
84	3,83	4,28	0	0,396
85	4,44	4,75	0	0,339
86	4,12	4,51	0	0,311
87	4,7	4,64	0	0,383
88	3,83	4,02	0	0,345
89	3,85	3,9	0	0,250
90	3,96	4,14	1	0,250
91	4,66	4,47	0	0,259
92	4,27	4,27	0	0,250
93	3,93	4,21	0	0,278
94	4,59	4,41	0	0,255
95	4,17	4,55	1	0,259
96	3,28	3,54	0	0,358
97	3,7	3,85	0	0,315
98	3,69	4,55	0	0,392

99	2,93	3,69	0	0,365
100	3,23	3,97	1	0,569
101	3,88	3,9	0	0,327
102	4,1	4,37	0	0,353

Annexe 2 : Résultats des mesures de la kaliémie dans le sang total hépariné et le plasma correspondant ainsi que la coloration du plasma et l'hématocrite des 98 spécimens d'ovins.

mouton n°	sang total	plasma	coloration	hématocrite
1	4,93	4,81	0	0,241
2	5,86	5,64	0	0,276
3	5,44	5,14	0	0,320
4	5,86	4,95	0	0,322
5	6,31	5,91	0	0,373
6	5,42	5,41	0	0,327
7	5,20	5,12	0	0,333
8	5,35	4,91	0	0,339
9	4,31	4,95	0	0,358
10	4,34	4,44	0	0,286
11	5,22	5,29	0	0,357
12	4,67	4,76	0	0,263
13	7,00	5,59	0	0,309
14	5,24	5,79	0	0,412
15	5,60	5,27	0	0,333
16	4,76	5,01	0	0,261
17	4,23	4,00	1	0,302
18	5,60	4,94	0	0,321
19	4,36	4,96	0	0,345
20	5,04	4,52	0	0,300
21	5,17	5,27	0	0,297
22	2,82	3,71	0	0,353
23	5,53	5,91	0	0,333
24	5,24	5,58	0	0,315
25	5,11	4,75	0	0,352
26	4,60	4,85	0	0,309
27	4,16	4,23	1	0,281
28	5,77	6,01	0	0,333
29	5,23	5,03	0	0,293
30	5,55	5,91	0	0,333
31	4,88	4,65	0	0,308
32	5,28	4,61	0	0,352
33	5,15	5,10	1	0,269
34	5,79	5,54	0	0,314
35	4,55	4,58	0	0,255
36	5,19	5,26	0	0,327
37	5,71	5,48	0	0,260
38	4,49	4,43	0	0,255
39	4,83	4,72	0	0,280

40	4,67	4,53	0	0,308
41	5,27	5,25	0	0,275
42	4,86	4,66	0	0,353
43	6,80	5,77	0	0,250
44	4,44	4,34	0	0,288
45	5,90	5,35	0	0,260
46	4,83	5,30	0	0,340
47	6,03	5,17	0	0,449
48	5,19	4,79	1	0,460
49	5,81	5,68	3	0,392
50	6,36	5,87	0	0,383
51	7,24	6,07	0	0,409
52	12,00	6,16	0	0,396
53	7,97	6,14	1	0,420
54	6,41	5,93	1	0,529
55	4,98	4,90	1	0,404
56	7,78	6,11	0	0,370
57	7,79	6,08	0	0,469
58	5,82	5,01	0	0,408
59	6,22	4,96	1	0,404
60	6,03	5,09	0	0,408
61	5,76	5,14	0	0,373
62	5,48	5,15	0	0,419
63	5,56	5,00	0	0,469
64	5,94	5,21	0	0,447
65	5,50	4,99	0	0,380
66	7,37	5,03	1	0,408
67	6,08	4,66	1	0,377
68	6,32	5,09	0	0,429
69	5,42	3,90	0	0,405
70	5,43	4,78	0	0,442
71	5,95	4,14	0	0,419
72	5,80	4,65	0	0,472
73	4,69	4,68	0	0,388
74	4,97	4,88	1	0,377
75	5,57	5,35	0	0,447
76	5,91	6,11	0	0,426
77	5,03	4,47	0	0,373
78	6,25	6,05	0	0,469
79	6,39	5,81	0	0,364
80	5,54	5,63	0	0,429
81	5,96	5,87	0	0,396
82	4,51	4,25	0	0,396
83	5,49	5,57	0	0,429
84	4,58	4,56	0	0,388
85	4,49	4,47	0	0,442
86	4,60	4,86	0	0,463
87	5,62	5,21	0	0,429
88	8,04	4,86	1	0,405
89	5,77	4,80	0	0,396

90	5,41	5,92	0	0,417
91	6,51	5,44	0	0,412
92	6,50	5,91	0	0,404
93	5,51	4,87	0	0,400
94	8,58	5,78	0	0,429
95	5,25	5,22	0	0,395
96	6,95	6,00	0	0,392
97	6,35	5,60	0	0,415
98	6,14	5,32	0	0,404

Annexe 3 : Résultats des mesures de la kaliémie dans le sang total hépariné et le plasma correspondant ainsi que la coloration du plasma et l'hématocrite des 98 spécimens d'équins.

cheval n°	sang total	plasma	coloration	hématocrite
1	3,41	3,83	0	0,439
2	3,27	3,38	0	0,333
3	3,12	3,27	0	0,385
4	3,24	3,42	0	0,256
5	3,62	3,73	0	0,426
6	2,54	2,56	0	0,339
7	3,44	3,56	0	0,463
8	3,12	3,25	0	0,281
9	3,86	3,86	1	0,370
10	3,66	3,68	0	0,345
11	3,03	3,60	0	0,300
12	3,49	3,38	0	0,268
13	3,26	3,15	0	0,370
14	3,28	3,28	0	0,233
15	3,40	3,63	0	0,306
16	2,99	2,91	0	0,317
17	3,60	3,63	0	0,346
18	3,60	3,61	0	0,393
19	3,65	3,56	0	0,389
20	3,14	3,01	0	0,396
21	3,58	3,82	0	0,407
22	2,61	2,65	0	0,364
23	3,12	3,52	0	0,358
24	3,95	3,94	0	0,350
25	3,61	3,81	0	0,333
26	2,48	2,74	0	0,368
27	3,89	4,14	0	0,370
28	3,85	4,24	0	0,370
29	3,50	3,41	0	0,404
30	3,57	3,81	0	0,392
31	3,93	4,15	0	0,388
32	3,76	4,00	0	0,373
33	3,72	3,99	0	0,407
34	4,13	4,52	0	0,451
35	3,10	3,04	0	0,377
36	3,91	2,99	0	0,404

37	3,78	4,02	0	0,400
38	4,32	5,03	0	0,375
39	3,21	3,69	0	0,368
40	3,05	3,24	0	0,377
41	3,43	3,69	0	0,288
42	3,29	3,62	1	0,280
43	3,35	3,82	0	0,352
44	3,64	3,78	0	0,392
45	3,68	3,68	0	0,393
46	4,36	4,28	3	0,203
47	4,01	4,27	0	0,250
48	3,55	3,23	0	0,250
49	3,51	3,72	0	0,260
50	3,62	3,83	0	0,314
51	3,84	3,99	0	0,275
52	3,87	3,85	0	0,309
53	3,61	3,78	0	0,255
54	3,28	3,43	0	0,320
55	3,43	3,52	0	0,286
56	2,81	2,77	0	0,321
57	3,48	3,43	0	0,275
58	4,79	4,86	0	0,288
59	3,20	3,29	0	0,357
60	3,70	3,66	0	0,353
61	3,48	3,68	1	0,264
62	3,87	3,99	0	0,365
63	3,58	3,62	0	0,358
64	3,01	2,92	0	0,353
65	3,51	3,58	0	0,314
66	3,54	2,42	0	0,308
67	3,74	3,76	0	0,347
68	3,99	4,36	1	0,365
69	4,25	4,81	0	0,375
70	3,88	4,37	0	0,370
71	4,16	4,21	0	0,420
72	4,18	4,50	0	0,353
73	4,47	4,46	0	0,408
74	4,38	4,63	0	0,404
75	4,46	4,33	0	0,353
76	4,18	4,39	0	0,364
77	3,77	3,74	0	0,389
78	3,66	3,81	0	0,415
79	3,22	3,32	0	0,365
80	3,36	3,52	0	0,377
81	3,75	3,84	0	0,451
82	3,41	3,39	0	0,436
83	3,69	3,66	0	0,415
84	3,58	3,47	0	0,412
85	3,59	3,55	0	0,352
86	2,70	2,50	0	0,385
87	2,69	2,84	0	0,434
88	3,41	3,45	0	0,420
89	2,82	2,70	0	0,367
90	3,56	3,77	0	0,415

91	3,79	3,77	0	0,440
92	3,79	3,82	0	0,429
93	2,93	3,21	0	0,420
94	3,31	3,51	0	0,358
95	3,35	3,57	0	0,377
96	2,44	2,49	0	0,393
97	3,11	3,09	0	0,358
98	3,44	3,57	0	0,404

Toulouse, 2004

NOM : GOURDIN

PRENOM : JULIEN

TITRE : Comparaison des résultats de mesure du potassium dans le sang total et le plasma hépariné de chevaux, bovins et ovins à l'aide du système Reflovet Plus

RESUME

Le Reflovet est un analyseur de constituants biochimiques prévu pour utiliser du sang total, excepté pour le potassium en raison de la possible interférence de ces ions libérés à partir des érythrocytes. Cette étude, a comparé les résultats de mesure de la kaliémie obtenus avec du sang total et le plasma correspondant de 102 bovins, 98 ovins et 98 équins. Il n'a pas été tenu compte de l'âge, du sexe, de la race ni de l'état de santé de l'animal. L'agrément des mesures entre le sang et le plasma était très bon chez le cheval, moyen chez la vache et mauvais chez le mouton. Chez le cheval et la vache, la différence moyenne entre les deux techniques n'était pas cliniquement significative alors qu'elle était importante chez le mouton pouvant entraîner un mauvais classement des animaux entre pathologique et non pathologique. Il résulte de cette étude que l'on peut utiliser le Reflovet pour doser le potassium à partir d'un spécimen hépariné de sang total chez les équins et les bovins mais qu'il est fortement déconseillé d'utiliser du sang total pour effectuer ce dosage chez les ovins.

MOTS-CLES : potassium, Reflovet, sang total, plasma, hémolyse, bovin, ovin, équin.

ENGLISH TITLE : Comparison of potassium measurement in whole blood and plasma of horse, cow, and sheep with the Reflovet Plus system.

ABSTRACT :

The Reflovet system is a biochemical analyser recommended to be used with whole blood, except for potassium because of the possible interference with erythrocyte potassium. Potassium measurements in whole blood and corresponding plasmas of 102 cows, 98 horses and 98 sheep were compared. Age, sex, breed and medical status were not taken into account. Agreement between measures in blood and plasma were good for horses, average for cows and bad for sheep. For horses and cows the average difference was not clinically significant, it was important for sheep with the possible errors between pathological and non pathological classification of results. It is possible to use whole heparinized blood to measure potassium in horses and cows with the Reflovet but not in sheep.

KEY WORDS: potassium, Reflovet, whole blood, plasma, haemolysis, cow, sheep, horse.